

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de biologie végétale
Section de microbiologie

Département de microbiologie

FACULTE DES SCIENCES

Professeur G. TURIAN

FACULTE DE MEDECINE

Professeur R.H. REGAMEY

LES PSEUDOMONADACEES EN BACTERIOLOGIE MEDICALE : ETUDE TAXONOMIQUE

THESE

présentée à la faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences

par

Dezso Andras **KEKESSY**

de

Genève

Thèse No 1872

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de biologie végétale
Section de microbiologie

FACULTE DES SCIENCES

Professeur G. TURIAN

FACULTE DE MEDECINE
Professeur R.H. REGAMEY

LES PSEUDOMONADACEES EN BACTERIOLOGIE MEDICALE : ETUDE TAXONOMIQUE

THESE

présentée à la faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences

par

Dezso Andras KEKESSY

de

Genève

Thèse No 1872

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1978

La faculté des sciences, sur le préavis de Messieurs G. Turian, professeur ordinaire, R. Régamey, professeur (Faculté de médecine, Genève), codirecteurs de thèse et J.-D. Piguet, docteur ès sciences (Institut d'Hygiène, Genève) autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 15 juin 1978

Le doyen :
Bernard Levrat

Thèse No 1872



Je tiens à exprimer ma vive reconnaissance aux professeurs R.H. Regamey et G. Turian pour la bienveillance avec laquelle ils ont dirigé ce travail.

Je remercie spécialement le docteur J.D. Piguet pour ses conseils précieux et ses nombreux encouragements.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA FAMILLE

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	3
Origine des souches	
Techniques de caractérisation	
RESULTATS ET DISCUSSION	10
Achromobacter	
Acinetobacter	
Alcaligenes	
Chromobacterium	
Comamonas	
Empedobacter	
Flavobacterium	
Malleomyces	
Mimeae	
Moraxella	
Pseudomonas	
Pyocinotypie	
Xanthomonas	
CONCLUSION	41
RESUME	46
BIBLIOGRAPHIE	47

INTRODUCTION

En bactériologie médicale, on se heurte fréquemment à des problèmes, d'identification posés par de nombreux bâtonnets gram-négatifs qui se développent en général abondamment sur les milieux d'isolement dans les conditions d'incubation habituelles (germes eugoniques), mais qui se font remarquer, lors de la tentative d'identification, par des caractères négatifs, surtout en ce qui concerne les fermentations glucidiques. Les séries plus ou moins étendues de tests biochimiques mis au point pour la caractérisation des Enterobacteriaceae ne conviennent guère à l'identification de ces "souches inertes", qui donnent des "galeries muettes".

L'intérêt que l'on doit accorder à ces bâtonnets gram-négatifs non-fermentatifs est justifié par les exigences cliniques. En effet, lorsqu'on les isole de liquides céphalo-rachidiens, d'hémocultures répétées, d'urines (en nombre significatif) etc., le clinicien demande au microbiologiste un diagnostic sans équivoque. Dans d'autres cas, ces germes seront considérés comme des contaminants banaux et leur identification n'a pas d'intérêt immédiat.

L'importance de ces "non-fermentatifs" apparaît aussi en épidémiologie hospitalière. Leur fréquence, de plus en plus élevée, reflète le changement de flore microbienne qui s'opère dans le milieu hospitalier par l'usage à grande échelle de chimiothérapeutiques à large spectre.

Ceux-ci exercent une action sélective en favorisant le développement de souches résistantes, ils permettent également à des espèces inconnues ou réputées apathogènes, d'envahir le "biotope vide" et de manifester des propriétés pathogènes. Dans cette optique, d'autres groupes de "germes banaux" tels les coliformes, les microcoques, les corynébactéries et d'autres bactéries réputées saprophytes, doivent être reconsidérés.

Les bâtonnets gram-négatifs à métabolisme glucidique oxydatif sont étudiés dans le cadre de la famille des Pseudomonadaceae (Tableau I); il ne peut s'agir d'Enterobacteriaceae ou de Vibrionaceae, qui métabolisent les glucides par voie fermentative; il ne peut s'agir non plus de Parvobacteriaceae, car celles-ci sont également fermentatives ou nécessitent des facteurs de croissance particuliers. Ces exclusions focalisent la famille des Pseudomonadaceae dont la définition est lâche et dont les limites sont indéterminées. Nous allons tenter dans le cadre du présent travail de remédier à cet inconvénient, tout au moins en ce qui concerne son impact sur la bactériologie médicale.

Tableau I. Les bâtonnets gram-négatifs, aérobies,
non-fermentatifs, dans la systématique bactérienne
d'après Prévot

Embranchement	SCHIZOMYCETES
Sous-embranchement	EUBACTERIA
Classe	ASPORULALES
Ordre	BACTERIALES
Famille	PSEUDOMONADACEAE

Après avoir exposé les tests d'identification nous passerons en revue les genres et espèces connus de bâtonnets gram-négatifs déjà rencontrés et quelquefois "reconnus coupables" en bactériologie médicale ou vétérinaire, pour dégager leur identité de la masse de confusion taxonomique que l'on sait. Parallèlement, nous examinerons les espèces telles qu'elles se trouvent dans la réalité, c'est-à-dire isolées de produits pathologiques d'origine hospitalière.

En guise de conclusion, nous essayerons d'établir des schémas d'identification qui justifieront le but de ce travail.

M A T E R I E L E T M E T H O D E S

ORIGINE DES SOUCHES

Toutes les souches proviennent des laboratoires de diagnostic du Service de Microbiologie médicale de l'Institut d'Hygiène de Genève, où elles ont été isolées de produits pathologiques prélevés chez des malades des différents services de l'Hôpital cantonal et des Policliniques universitaires (Tableau II).

Ces souches, au nombre de 305, n'ont pas été recherchées systématiquement pour permettre cette étude, mais elles ont attiré l'attention "naturellement" par les difficultés d'identification qu'elles ont posées dans le diagnostic de routine.

Tableau II. Origine des souches

Urines	:	95
Plaies	:	70
Expectorations	:	25
Pus oreille	:	19
Gorge	:	18
Selles	:	15
Hémocultures	:	14
Escarres	:	14
Pus divers	:	11
Ascites	:	9
Pus péritoine	:	8
Laits maternels	:	4
L C R	:	3
TOTAL	:	305

TECHNIQUES D'IDENTIFICATION

Le processus d'identification comporte : l'observation des caractères morphologiques, microscopiques et macroscopiques ; l'étude des propriétés culturales et physiologiques ; l'examen des aptitudes métaboliques face aux composés glucidiques, lipidiques et azotés.

Les tests d'identification et les milieux de cultures ont été choisis en fonction des disponibilités du laboratoire, mais aussi en fonction de leur aptitude à caractériser la catégorie des germes à l'étude.

Bien que très en vogue pour les études taxonomiques, nous avons laissé volontairement de côté, à quelques exceptions près, les épreuves dites d'assimilation, qui nécessitent beaucoup de temps et qui ne satisfont guère aux besoins de la bactériologie clinique.

Dans les pages qui suivront, les tests de caractérisation sont exposés selon un ordre alphabétique.

Acétamide

L'activité acylamidase (la désamidation de l'acétamide par une amidase des composés aliphatiques) produite par *Ps. aeruginosa*, a été démontrée par Kelly et Clarke (1960). Le test le plus simple est celui proposé par Arai et coll. (1970). Une anse pleine de la souche cultivée sur gélose nutritive est suspendue dans 1 ml du milieu à l'acétamide qui contient par litre 2 g de phosphate acide de potassium, 0,1 g de sulfate de magnésium, 5 g de chlorure de sodium et 1 g d'acétamide. Le pH est réglé à 6,8. Après 6 h ou plus d'incubation à 30°C on ajoute une goutte de réactif de Nessler. Un précipité immédiat de couleur brun-rougeâtre indique une réaction positive.

Amidon

Les bactéries amylolytiques scindent l'amidon par hydrolyse, en dextrine par l'alpha-amylase ou en maltose par la bêta-amylase. Le processus continue jusqu'à la formation de glucose. Dans la pratique, on met en évidence l'action amylolytique de la façon suivante (68) : une plaque de gélose nutritive contenant 1 % d'amidon de pomme-de-terre ensemencée en stries ou en spots est incubée durant 7 jours à 30°C ou à 37°C ; on inonde la culture avec la solution iodo-iodurée utilisée pour la coloration de Gram. La gélose amidonnée prend alors une coloration bleu-foncé. Une zone incolore autour des colonies témoigne de l'action amylolytique de la souche.

Arginine

L'arginine-décarboxylase intervient dans le métabolisme anaérobie de l'arginine. Par décarboxylation elle la dégrade en agmatine qui est à son tour dégradée par l'agmatinase en putrescine et urée. Cette dernière peut aboutir à la formation d'ammoniac et de CO₂ (241). Le test s'exécute dans le milieu de Möller : peptone (Thiotone, BBL) 5 g, extrait de viande 5 g, pourpre de bromo-crésol 0,01 g, rouge de crésol 0,005 g, glucose 0,5 g, pyridoxal 5 mg, arginine 10 g, eau 1000 ml ; pH 6. Témoin : même composition, sans arginine. Un tube de milieu à l'arginine et un tube de milieu-témoin sont ensemencés légèrement puis recouverts d'une couche de paraffine stérile et incubés 7 jours. En cas de réaction positive, le milieu à l'arginine redevient bleu-violet après avoir viré au jaune, tandis que le témoin doit virer au jaune (production d'acide à partir du glucose).

Le système de l'arginine-dihydrolase est un mécanisme producteur d'énergie qui comprend 2 étapes enzymatiques : une désamidase décompose l'arginine en citrulline et ammoniac, et une citrulline-uréidase dégrade la citrulline en ornithine, en ammoniac et gaz carbonique (256). Ce système d'arginine-dihydrolase peut-être mis en évidence par le test de Niven et coll. (1942), utilisé surtout pour l'identification de certains streptocoques et des staphylocoques dorés. Un tube de milieu (peptone 5 g, extrait de levure 5 g, phosphate acide de sodium 2 g, glucose 0,5 g, dichlorure d'arginine 3 g, eau déminéralisée 1000 ml, pH 7) est ensemencé légèrement, puis incubé. On ajoute alors 0,25 ml de réactif de Nessler. L'apparition d'une couleur brune indique l'hydrolyse de l'arginine. La réaction négative se manifeste par une couleur jaune.

Bêta-galactosidase

Les bactéries qui attaquent le lactose le font grâce à deux enzymes : une perméase qui permet la pénétration du lactose dans la cellule et une bêta-galactosidase qui hydrolyse le lactose avec formation de glucose et de galactose. Lorsque la perméase est absente, la souche peut paraître "lactose-négative" quoique pourvue de bêta-galactosidase. Aussi, cherche-t-on à mettre en évidence l'action enzymatique de cette dernière sur l'orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside (O.N.P.G.) qui est hydrolysé comme le lactose, mais qui ne nécessite pas l'action préalable d'une perméase. Dans la méthode préconisée par l'Institut Pasteur on emploie des disques de papier-filtre imprégnés d'ONPG en solution tampon phosphatée. Un disque est ajouté à 0,5 ml d'une suspension épaisse en eau distillée, de la souche à tester. Une coloration jaune stable, qui apparaît le plus souvent en moins de 30 minutes, indique l'action de la bêta-galactosidase.

Capsules

De nombreuses colorations positives et négatives sont décrites. Nous avons opté pour la plus ancienne : la méthode de coloration de Burri à l'encre de Chine. Elle permet le mieux d'apprécier les dimensions capsulaires à l'état frais. Nous l'avons complétée par une contre-coloration au bleu de méthylène.

Catalase

La catalase, enzyme ferroprotéique intervenant dans la scission des peroxydes, est élaborée par de nombreuses espèces bactériennes aérobies. Son rôle est d'empêcher l'accumulation du peroxyde d'hydrogène, toxique pour la plupart des bactéries. Le test de la catalase peut être exécuté sur lame : une anse de culture sur gélose est déposée sur une lame porte-objet que l'on couvre avec une goutte d'eau oxygénée. Il peut être effectué également directement sur la culture en gélose (68) ou dans une suspension épaisse en soluté physiologique (54). Dans tous les cas l'activité catalasique se manifeste par un dégagement plus ou moins important de bulles d'oxygène. L'eau oxygénée à 10 volumes (3 % sol. aq.) peut être remplacée par une solution à plus forte concentration dans des cas de réactions douteuses.

Cétrimide

Le cétrimide ou bromure de cétyl-triméthyl-ammonium, un composé d'ammonium quaternaire, permet la croissance sélective de certains *Pseudomonas* (217). Le milieu utilisé contient : peptone 20 g, chlorure de magnésium 1,4 g, sulfate de potassium 10 g, gélose 13,6 g, cétrimide 0,3 g, hP 7,2. Il est ensemencé en stries, puis incubé à 30°C. Outre la présence ou l'absence de croissance, on peut également observer sur ce milieu la production des pigments caractéristiques des *Pseudomonas*.

Citrate

L'utilisation du citrate comme seule source de carbone est un test d'assimilation. Il a été exécuté sur le milieu synthétique de Koser-Simmons non gélifié : sulfate de magnésium 0,2 g, phosphate mono-ammoniacal 1 g, phosphate bipotassique 1 g, citrate de sodium 1 g, chlorure de sodium 5 g, bleu de bromo-thymol 0,08 g, eau distillée 1000 ml, pH 6,8. Dans ce milieu, ensemencé et incubé à 30°C, on observe la présence ou l'absence de culture. La croissance s'accompagne du virage de la couleur du milieu vers le bleu outre-mer.

Désoxyribonucléase

La désoxyribonucléase, enzyme extracellulaire élaborée par certaines espèces bactériennes, dépolymérise l'acide désoxyribonucléique contenu dans le milieu en petits fragments non-précipitables par HCl. Elle est aisément reconnue par la technique de Jeffries et coll. (1957). La souche à l'étude est ensemencée en stries ou en "spots", sur la surface d'une plaque de gélose ordinaire contenant 2 g/l d'acide désoxyribonucléique. Après 24 h ou plus d'incubation à 30°-37°C, on inonde la gélose avec de l'acide chlorhydrique normal, qui précipite l'ADN, et rend le milieu opaque, ce qui a pour effet de déterminer des zones transparentes autour des macrocolonies productrices d'ADN-ase.

Flagelles

La détermination du nombre et de la position des flagelles est réputée d'une grande valeur taxonomique. A cet effet de nombreuses techniques ont été proposées (203, 205, 207). Celle attribuée à Plimmer et Plaine (62) nous a donné entière satisfaction. Le colorant est composé de : acide tannique 10 g, chlorure d'aluminium hydraté 18 g, chlorure de zinc 10 g, rosaniline 1,5 g, éthanol à 60 % 40 ml.

Cette solution est diluée 1 : 4 juste avant l'usage. Elle est alors appliquée 2 minutes sur un étalement non chauffé réalisé à partir d'une suspension aqueuse de bactéries. La lame est lavée à l'eau, puis une contre-coloration au bleu de méthylène peut être appliquée. Les corps bactériens seront colorés en bleu et les flagelles en rouge. A l'observation, on cherche à distinguer les ciliatures monotriches, lophotriches et péritriches.

Gélatine

L'hydrolyse, la liquéfaction ou la digestion de la gélatine, forme dénaturée du collagène, est le reflet du pouvoir protéolytique non-spécifique dû à une exoprotéase élaborée par de nombreux microorganismes. Parmi les procédés proposés pour la mise en évidence de l'action gélatinolytique, nous avons adopté celui préconisé par Le Minor et Piéchaud (1963). Une languette de film photographique exposé est introduite à moitié dans une culture en bouillon ou dans une suspension épaisse de bactéries. En cas d'action protéolytique de la souche, la pellicule de gélatine recouvrant le film sera dissoute : la suspension noircit un peu à cause de la libération de particules d'argent, la partie submergée du film devient complètement transparente en quelques heures ou quelques jours.

Glucides, test 0-F

Ce test, conçu par Hugh et Leifson (1953), permet de préciser la voie métabolique, fermentaire ou respiratoire, utilisée par le germe pour la dégradation des glucides. Le milieu utilisé contient par litre d'eau distillée : peptone 2 g, chlorure de sodium 5 g, phosphate de potassium 0,3 g, gélose 2,5 g, bleu de bromothymol 0,03 g, sucre 1 g. Les glucides que nous avons choisis sont le glucose, le lactose, le saccharose, le maltose, le mannitol et le glycérol. Le milieu est préparé sous forme de gélose profonde. Le pH est réglé à 7. Les souches que nous étudions ont été choisies en raison de leur caractère non fermentatif pour le glucose ; aussi le test de Hugh et Leifson est-il exécuté dans sa plus simple expression : pour chaque glucide un seul tube estensemencé et incubé dans des conditions d'aérobiose. Si le sucre est dégradé, les germes oxydatifs provoquent un virage au jaune dans la partie supérieure du milieu. Les souches qui ne métabolisent pas le sucre testé ne provoquent aucun changement du milieu et sont qualifiées "d'inertes" ; elles produisent néanmoins quelquefois une alcalinisation du milieu par suite du métabolisme des peptones, et sont dites "alcalinisantes".

Gluconate

Le test de l'oxydation du gluconate en un produit réducteur : le 2-cétogluconate ou éventuellement le 2-céto-6-phosphogluconate, met en évidence une des voies du métabolisme oxydatif des glucides qui aboutit à la formation de l'acide 6-phosphogluconique, point de départ de la voie des pentoses-phosphates et de celle d'Entner-Doudoroff (voie du 2-céto-3-désoxy-gluconate). L'épreuve est effectuée selon la technique de Haynes (1951) modifiée (306). Le milieu (peptone 1 g, gluconate de potassium 40 g, eau distillée 1000 ml ; pH 7) estensemencé puis incubé 1, 2 et 7 jours à 30°C. Le réactif (une tablette Clinitest de Ames Co.) est alors ajouté. La formation immédiate ou tardive d'un précipité brun-orange indique l'oxydation du gluconate en son dérivé réducteur. Le milieu devient et demeure bleu si la réaction est négative.

Gram

Cette coloration s'effectue selon la méthode habituelle à partir d'une culture en bouillon après 2 - 4 et 24 heures d'incubation pour apprécier les changements morphologiques éventuels pouvant survenir en fonction de l'âge de la culture. On exécute également une coloration à partir d'une culture de 24 h sur milieu solide.

Hemolyse

Le pouvoir hémolytique est observé sur gélose au sang. Le milieu utilisé correspond à la gélose nutritive additionnée de 10 % de sang humain citraté.

Hydrogène sulfuré

L'hydrogène sulfuré est dégagé à partir des groupements "thiol" des acides aminés soufrés. Il peut être mis en évidence soit par la formation de sulfure de plomb en présence d'acétate de plomb, soit par la formation de sulfure de fer si le milieu contient des sels de fer. Dans les deux cas la coloration noire sera caractéristique. Nous avons observé la formation d'hydrogène sulfuré sur les milieux TSI et SIM de BBL.

Indole

Le milieu doit contenir du tryptophane, qui est transformé en indole ou benzopyrrole par la tryptophanase élaborée par certains microorganismes. On met cette enzyme en évidence par la réaction d'Ehrlich, qui consiste à acidifier par HCl une culture en bouillon peptoné et à l'ajouter d'une solution alcoolique de para-diméthyl-aminobenzaldéhyde : en présence d'indole, une coloration rose caractéristique, apparaît.

Lécithinases

Les lécithinases, enzymes exo-cellulaires que l'on peut rencontrer dans certaines toxines bactériennes, scindent les lécithines ou phosphatidylcholines en phosphorylcholine et en di-esters d'acides gras et de glycérol. Outre la réaction de Nagler (action sur le sérum), on peut mettre en évidence l'action des lécithinases sur les lécithovitellines, composantes du jaune d'oeuf. La souche à tester estensemencée

en stries ou en spots sur la gélose au jaune d'oeuf (gélose nutritive liquéfiée additionnée de 10 % d'une émulsion stérile de jaune d'oeuf) que l'on incube à 30°C pendant 1 à 5 jours. La présence d'une lécithinase se manifeste par l'apparition, autour de la colonie, d'une zone opaque due à un précipité blanchâtre.

Lipase

Les lipases sont des exoenzymes capables d'hydrolyser les esters d'acides gras à longues chaînes. Les substrats les plus fréquemment utilisés pour démontrer l'activité lipolytique sont la tributyrine, le glycériltributyrate et le Tweens (311). Les Tweens sont des esters d'acides gras et d'un dérivé du sorbitan, le polyoxyéthylène. Le Tween 80 est un ester de l'acide oléique, très stable, neutre et résistant à la chaleur. Le test s'exécute comme suit : le milieu (gélose nutritive contenant 1 % de Tween 80, coulé en Pétri) est ensemencé de façon à obtenir des macrocolonies ; il est incubé 7 jours à 30°C. Journallement on recherche l'apparition de zones opaques autour des colonies ; l'opacité due à l'accumulation d'oléate de Ca insoluble, libéré du substrat par lipolyse.

Lysine

La lysine-décarboxylase dégrade la lysine avec formation de gaz carbonique et d'une amine : la cadavérine. Cette dernière peut être mise en évidence par la technique de Carlquist. Tout milieu de culture contenant de la lysine peut être utilisé. La tranche d'un milieu TSI est ensemencée avec la souche à tester qui sera incubée 18 - 24 h à 30°C. On ajoute alors à la culture environ 1 ml de NaOH 4N et 2 ml de chloroforme. On agite et laisse reposer. On transporte 0,5 ml de la solution chloroformée clarifiée dans un tube à hémolyse auquel on ajoute une quantité équivalente de réactif à la ninhydrine (0,1 % dans du chloroforme). L'apparition d'une coloration violette ou pourpre dans l'espace de 10 minutes prouve la décarboxylation de la lysine en cadavérine.

Mac Conkey Agar

Dans le travail de routine, il est significatif d'observer l'intensité de la culture sur le milieu de Mac Conkey (1908). Ce milieu contient : peptone 20 g, lactose 10 g, sels biliars 5 g, chlorure de sodium 5 g, gélose 12 g, rouge neutre 0,04 g, eau distillée 1000 ml ; pH 7,4. Il est ensemencé en stries. Après incubation adéquate, la croissance en présence de sels biliars et l'attaque du lactose peuvent être observés.

Malonate

L'utilisation du malonate par fermentation est recherchée sur le milieu synthétique de Leifson modifié : extrait de levure 1 g, sulfate d'ammonium 2 g, phosphate bipotassique 0,6 g, phosphate monopotassique 0,4 g, chlorure de sodium 2 g, malonate de sodium 3 g, glucose 0,25 g, bleu de bromothymol 0,025 g, eau distillée 1000 ml. Le pH est réglé à 7. On ensemence 3 ml de milieu et on l'incube. La lecture se fait quotidiennement. Le test est positif quand la couleur du milieu vire du vert au bleu-outre-mer (pH 8 - 9).

Méthionine

La méthionine est un facteur de croissance pour certaines espèces, notamment pour *Pseudomonas maltophilia* (168). On peut démontrer la dépendance vis-à-vis de la méthionine par culture de la souche sur un milieu synthétique dépourvu de méthionine. Nous avons utilisé le milieu citraté de Koser. Sur ce milieu les germes méthionine-dépendants ne se développent pas. Le même milieu additionné de méthionine permet la croissance de ces germes. Tous les milieux ordinaires habituellement utilisés contiennent des traces de méthionine.

Mobilité

L'observation de la mobilité n'est guère possible en milieu gélosé profonde pour la catégorie de germes que nous étudions, car ils sont pour la plupart aérobies stricts et ne poussant pas en profondeur. Par contre, la mobilité peut être observée en goutte pendante faite à partir de cultures jeunes en bouillon. Les résultats sont comparés avec l'observation des cils sur des étalements colorés spécialement.

Nitrates

La réduction des nitrates par les bactéries est démontrée par la mise en évidence dans les milieux de culture de produits de réduction tels que nitrites, hyponitrites, hydroxylamine d'ammonique, oxyde nitreux et azote gazeux (Cowan-Steel). Dans la pratique, on recherche des nitrates résiduels. On commence une éprouvette de bouillon nutritif contenant 1 g/l de nitrate de potassium et un tube renversé, après 24 - 48 h d'incubation on recherche les nitrites : introduire dans l'éprouvette environ 0,5 ml d'une solution d'acide sulfanilique à 0,8 % en acide acétique 5 N, puis une quantité équivalente d'une solution d'alpha-naphtylamine à 0,5 % dans l'acide acétique 5N. Une coloration rouge immédiate indique la présence de nitrites. En cas de réaction négative, on ajoute environ 5 mg/ml de poudre de zinc : une coloration rose indique la réduction du nitrate en nitrite par le zinc (test négatif) ; l'absence de coloration signifie que le nitrate a été réduit en un dérivé hyponitreux (test positif). La réduction jusqu'au stade d'azote moléculaire se manifeste par la présence de gaz dans le tube renversé ou de petites bulles à la surface du milieu.

Oxydase

La réaction de l'oxydase permet de mettre en évidence la transformation oxydative de la tétraméthyl-para-phénylène-diamine par l'oxydase du cytochrome-C en indophénol, un dérivé violet. Elle a été introduite en bactériologie par Gordon et McLeod (1928) pour la différenciation des colonies de *Neisseria* en culture mixte ; elle fut généralisée telle que Kovacs (1956) l'a conçue pour le diagnostic des *Pseudomonas*, et subit quelques modifications qui lui ont été apportées (198, 310). Une variante de la réaction est connue sous le nom du test de la cytochrome-oxydase (92, 107). Nous avons exécuté ce test à l'aide des papier-disques Taxo N (BBL) imprégnés de para-amino-diméthyl-aniline selon les méthodes recommandées par le fabricant.

Phénylalanine

La phénylalanine est d'abord transformée par hydroxylation en tyrosine puis, par transamination, en acide p-hydroxyphényl-pyruvique (APP). La formation d'APP est mise en évidence sur le milieu suivant (Ewing et coll., 1957) : peptone 10 g, phosphate bipotassique 1 g, NaCl 5 g, extrait de levure 3 g, dl-phényl-alanine 2 g, agar 12 g, eau distillée 1000 ml, pH 7,2. La souche étudiée est cultivée 24 h à 30 - 37°C, on la recouvre alors avec le réactif : 5-6 gouttes d'une solution à 10 % de chlorure ferrique (312). L'apparition rapide d'une coloration verte caractérise la présence d'acide phényl-pyruvique.

Pigments

La production de pigments par les bactéries peut se manifester sur des milieux ordinaires, mais il est recommandé, du moins pour les pseudomonades, de la rechercher sur des milieux spéciaux (52, 101, 188, 291). Pour l'observation de la production de pigments les techniques de King, Ward et Raney (1954) sont adoptées.

Rouge de méthyle

Cette épreuve typique des *Enterobacteriaceae* met en évidence la forte acidification (pH 4,4) d'une culture bactérienne en milieu glucosé. Ce test a été exécuté sur le milieu synthétique de Fouad (54). Le réactif (rouge de méthyle à 0,5 % dans l'alcool à 60 %) est ajouté à raison d'une goutte par ml de culture après 24 - 48 h d'incubation à 30°C. Teinte rouge : réaction positive. Teinte jaune : négative.

Respiration

Le type respiratoire est déterminé selon la méthode de Prévot en colonne de gélose profonde. Le milieu que nous avons utilisé est de la gélose nutritive dépourvue de nitrates, coulée en tubes avec une profondeur de 10 cm environ ; régénéré lors de l'emploi et refroidi à 45°C, il estensemencé dans toute sa profondeur par mouvements spiralés d'une pipette Pasteur, il est alors solidifié par refroidissement à l'eau, puis incubé 7 jours à 30°C. Nous différencions une aérobie obligatoire et une anaérobiose facultative : la première se manifeste par une croissance uniquement dans la partie supérieure, oxygénée, du milieu tandis que la seconde présente une croissance plus ou moins homogène dans toute la hauteur de la colonne de gélose.

Respiration-Nitrate

Dans la respiration normale, l'oxygène moléculaire joue le rôle d'accepteur final des électrons qui proviennent de la chaîne des réactions cataboliques. Ce rôle d'accepteur final d'électrons peut être également rempli par les nitrates. C'est ainsi qu'en présence de nitrates certains germes aérobies sont capables de se développer dans des conditions de stricte anaérobiose. Pour cette recherche on utilise la même technique que pour la détermination du type respiratoire ; le milieu utilisé est toutefois différent : il contient, en plus 1 g de nitrate de potassium.

Sellers Agar

Sellers (1964) a conçu un milieu pour la différenciation des bacilles gram-négatifs non fermentatifs. Le milieu, tel qu'il est préparé par BBL, est utilisé sous forme de gélose inclinée dont on ensemence la tranche en stries et le culot en piqûres juste avant d'introduire environ 0,15 ml (2 gouttes) d'une solution stérile de glucose à 50 % au fond de la tranche. Après 24 - 48 h d'incubation à 37°C on peut constater : le virage de la couleur de la tranche au bleu (pH alcalin), la formation d'un anneau jaune (oxydation du glucose), la croissance en anaérobiose (fond bleu), la formation d'azote gazeux fragmentant parfois la gélose, et la fluorescence en lumière ultraviolette.

Tellurite

La gélose au sang humain est additionnée, par litre de milieu, de 16 ml d'une solution aqueuse à 2 % de tellurite de potassium, solution stérilisée par filtration et ajoutée au milieu en même temps que le sang. Le milieu coulé en Petri est ensemencé en stries. Après incubation à 30°C, les souches résistantes à cette concentration de tellurite (0,03 %) donnent des colonies noires ou gris-noires. Les souches sensibles à l'action inhibitrice du tellurite ne se développent pas ou donnent des colonies minuscules visibles à la loupe seulement.

Températures

L'influence de la température d'incubation a été contrôlée à 4, 30, 37 et 42°C. Les milieux de culture sont : la gélose nutritive ou la gélose au sang humain pour les températures de 4, 30 et 37°C, le bouillon glucosé pour celle de 42°C. L'incubation se poursuit pendant 4 jours à la glacière (4°C), à l'étuve (30°C et 37°C) et au bain-marie (42°C). Les milieux sont préincubés avant l'ensemencement. La lecture est quotidienne. Pour l'épreuve à 42°C certains auteurs recommandent l'utilisation d'un milieu solide et trois subcultures consécutives, ce qui à notre avis serait plutôt une épreuve de survie que de croissance.

T. T. C.

Le test de croissance en présence de chlorhydrate de triphényltétrazolium (T. T. C.) mis au point par Selenka (1958) était destiné à distinguer *Pseudomonas aeruginosa* des autres pseudomonades fluorescentes. Les souches capables de croître en présence de T. T. C. transforment par réduction la substance incolore en dérivé rouge. La gélose nutritive contenant 1 % de T. T. C. est ensemencée puis incubée. La lecture se fait quotidiennement durant 5 jours. Les souches non inhibées forment des colonies rouge-foncé.

Voges-Proskauer

La mise en évidence d'acétyl-méthylcarbinol ou acétolne constitue un test typique des Enterobacteriaceae, généralement exécuté simultanément à la réaction du rouge de méthyle. Le test, basé sur le métabolisme glucidique (fermentation acide mixte), est exécuté selon la version de O'Meara : on ajoute à 0,5 ml de culture en milieu de Fouad (voir rouge de méthyle) une pincée de créatinine et 0,5 ml d'une solution de soude à 40 % dans l'eau ; puis on agite énergiquement pendant 2 minutes. L'apparition dans les 5 - 10 minutes d'une teinte rose ou rouge correspond à une réaction positive.

Uréase

L'uréase est une enzyme habituellement constitutive, parfois adaptive, de nombreux micro-organismes. Elle hydrolyse l'urée en carbonate d'ammonium, ou en gaz carbonique et ammoniacale. La recherche de l'uréase se fait surtout sur le milieu à l'urée de Christensen : peptone 1 g, glucose 1 g, phosphate monopotassique 2 g, NaCl 5 g, gélose 20 g, eau distillée 1000 ml, solution de rouge de phénol à 4 % 3 ml ; pH 7 ; on ajoute après stérilisation 0,5 ml d'une solution d'urée à 20 % stérilisée par filtration. La souche à tester est ensemencée sur la tranche et en piqûre. Après incubation de quelques heures à 5 jours à 30° - 37° C la coloration rouge-violet du milieu indique la présence d'une uréase.

R E S U L T A T S E T D I S C U S S I O N

Il est généralement admis que les caractères morphologiques, tels que la forme cellulaire, la coloration selon Gram, la présence de spores, la mobilité et la disposition flagellaire, la propriété chromogène, ainsi que les caractères physiologiques, tels que le type respiratoire, la production de l'oxydase et le métabolisme glucidique, constituent des critères taxonomiques majeurs. Parmi ces caractères, la forme bacillaire ou coccobacillaire, la négativité du gram, l'aérobiose obligée, et l'incapacité de dégrader les glucides par voie fermentative sont les critères qui nous ont permis de collectionner les souches étudiées. L'aptitude à former des spores n'a pas été prise en considération, car elle est toujours absente chez les bâtonnets gram-négatifs aérobies.

Pour établir des groupes au niveau générique, nous avons retenu les caractères majeurs suivants : la mobilité, le pouvoir chromogène, la production de l'oxydase du cytochrome-C et le métabolisme glucidolytique oxydatif, ou leur absence. Intentionnellement, nous avons omis de considérer les types d'insertion flagellaire (polaire ou péritriche) car la totalité de nos souches mobiles présentait uniquement une ciliation de type polaire, monotriche ou lophotriche. Nous pensons par ailleurs que la ciliation péritriche si caractéristique des espèces mobiles de la famille des Enterobacteriaceae doit être accidentelle, sinon inexistante, dans la famille des Pseudomonadaceae.

Dans les pages qui vont suivre, nous discuterons la validité de ce groupage en rapport avec les renseignements de l'étude bibliographique. En même temps, nous passerons en revue, dans l'ordre alphabétique, tous les genres de pseudomonades, indépendamment du fait que nous ayons ou non retrouvé certains de leurs représentants dans le milieu hospitalier.

ACHROMOBACTER

Les germes répondant au nom d'Achromobacter appartiennent au genre le plus controversé. Ce genre, créé par Bergey et coll. (1923), doit grouper les espèces constituées par des bâtonnets gram-négatifs mobiles ou immobiles, généralement non-glucidolytiques, donnant des colonies achromogènes. Bergey place ce genre dans la famille des Achromobacteriaceae à côté des Alcaligenes et de Flavobacterium ; d'autres auteurs (325) l'ont classé parmi les Enterobacteriaceae, conception qui n'a guère persisté ; enfin pour Magrou et Prévot (1948) ce genre fait partie des Pseudomonadaceae.

Sur proposition de Brisou et Morichau-Beuchant (1952) et Brisou (1953) le genre Achromobacter renferme, à côté des saprophytes, des espèces considérées comme pathogènes et connues à l'époque sous les noms de Bacterium anitratum, Moraxella lwoffii, M. lwoffii v. glucidolytica et l'espèce "B₅W". Tatum et coll. (1974) définissent le genre Achromobacter comme des bâtonnets gram-négatifs à ciliation péritriche, aérobies stricts qui attaquent certains glucides par voie oxydative et donnent une réaction d'oxydase positive. Une espèce-type est proposée par Yabuuchi et Ohyama (1971) : Achromobacter xylosoxidans, ainsi nommé en raison de son aptitude particulière à oxyder le xylose en 18 - 24 heures,

tandis que le glucose n'est attaqué qu'après 6 - 7 jours. L'ancienne espèce-type, Achromobacter liquefaciens, définie par Bergey en 1923, n'a, selon l'aveu même de Breed dans le Bergey's Manual (1957), jamais été retrouvée par la suite.

Nous n'avons observé aucune souche qui correspondit aux définitions confuses et contradictoires du genre Achromobacter. Aussi, pensons-nous que ce genre, tel qu'il est défini dans la littérature, doit être insignifiant, sinon inexistant en bactériologie médicale.

Par ailleurs, le genre Acinetobacter, très voisin, groupe - incorrectement à notre avis -, aussi bien des souches qui oxydent le glucose que celles qui n'attaquent pas ce genre (A. lwoffii). Nous proposons de séparer ces dernières du genre Acinetobacter, ce qui en dépouillerait la définition, et de les inclure dans le genre Achromobacter. Celui-ci aurait alors un contenu réel et sa définition générique deviendrait : bâtonnets gram-négatifs, achromogènes, immobiles, oxydase-négatifs et glucose-négatifs (Tableau III).

Tableau III. Genre Achromobacter

BERGEY, 1923 : bâtonnets gram-négatifs mobiles ou immobiles, généralement non glucidolytiques, donnant des colonies achromogènes. Espèce-type : *Achromobacter liquefaciens*, (jamais retrouvé).

BRISOU, 1953 : inclusion dans ce genre de *Bacterium anitratum* (glucidolytique) et de *Moraxella lwoffii* (non-glucidolytique) considérés pathogènes.

Définition proposée : bâtonnets gram-négatifs aérobies obligés, achromogènes, immobiles, oxydase-négatifs, non-glucidolytiques.

Espèce-type	: <i>Achromobacter lwoffii</i>	Brisou	1953
Synonymes	: <i>Alcaligenes metalcaligenes</i>	Castellani	1919
	<i>Moraxella lwoffii</i>	Audureau	1940
	<i>Mima polymorpha</i>	DeBord	1942
	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Brisou	1954
	<i>Mima lwoffii</i>	Mitchell	1964
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Lessel	1971

ACHROMOBACTER LWOFFI

La première description de cette espèce, que nous considérons comme l'espèce-type du genre Achromobacter, revient probablement à Castellani et Chalmers (1919), qui ont présenté sous le nom de Alcaligenes metalcaligenes des petits bâtonnets gram-négatifs, immobiles, non-glucidolytiques et non-gélatinolytiques. En 1939-1942, DeBord la redécouvre et la décrit sous le nom de Mima polymorpha. A la même époque (1940), Audureau décrit une espèce identique sous le nom de Moraxella lwoffii. En 1951, Piechaud et coll. démontrent

l'identité de Mima polymorpha et de Moraxella lwoffii. Pour Brisou et Morichaud-Bauchant (1952) cette espèce devient Achromobacter lwoffii en attendant que Brisou et Prévot (1954) la redéfinissent comme Acinetobacter lwoffii. Mitchell et Burrell (1964) proposent de leur côté une désignation on ne peut plus hybride en la nommant Mima lwoffii. Enfin, suite aux travaux de Baumann et coll. en 1968, on intègre A. lwoffii et A. anitratus dans la nouvelle espèce : Achromobacter calcoaceticus (Lessel, 1971).

Dans la littérature médicale ce sont surtout les termes de Moraxella lwoffii, Mima polymorpha et Acinetobacter lwoffii, qui sont les plus utilisés. On considère ces germes comme étant des commensaux de l'homme et des animaux (87), mais on les isole aussi fréquemment des milieux naturels (2,14,185) ; leur caractère ubiquitaire semble donc bien établi (286). Du point de vue médical, ils ont été reconnu responsables d'affection dans les tractus génital (72, 73) gastrointestinal (69) et respiratoire (111).

Quant à nous, nous avons isolé 46 souches d'Achromobacter de plaies, d'urines, d'expectorations, de prélèvements génitaux, et de peau. Toutes les souches répondent à la définition générique des Achromobacter. Parmi leurs caractères secondaires nous avons retenu le pouvoir hémolytique et la production d'acylamidase pour déterminer les groupes (Tableau IV).

Tableau IV. Achromobacter

bâtonnets gram-négatifs, aérobies obligés, achromogènes, aciliés, oxydase-négatifs, non-glucidolytiques, nitrates-négatifs, non-protéolytiques.

Nb souches	32	6	8
Hémolyse	-	+	-
Acylamidase	-	-	+
	<u>A. lwoffii</u>	<u>A. lwoffii</u> <u>v. hemolyticus</u>	<u>Achromobacter sp.</u>

ACINETOBACTER

La catégorie de germes définie comme de courts bâtonnets gram-négatifs, disposés généralement en diplococcobacilles, immobiles, aérobies stricts, achromogènes, non-fermentatifs et oxydase-négatifs, a donné lieu à de longues controverses taxonomiques. Les espèces qui font partie de ce groupe ont été décrites successivement comme Diplococcus, Haemophilus, Bordetella, Neisseria, Herellea, Mima, Moraxella, Cytophaga et Achromobacter, pour ne pas parler de "Bacterium" et d'autres désignations qui ne font partie d'aucun système taxonomique comme par exemple "B5W".

Lors de leur révision des espèces du genre Achromobacter, Brisou et Prévot (1954) ont proposé de placer toutes les espèces immobiles dans un genre

nouveau qu'ils ont créé à cet effet, le genre Acinetobacter, qui constitue le deuxième genre de la tribu Achromobactereae, famille des Pseudomonadaceae. Genre et position taxonomique ainsi déterminés, Brisou et Prévot définissent les espèces en fonction des caractères suivants : activité glucidolytique, réduction des nitrates, hydrolyse de la gélatine, production d'indole et d'hydrogène sulfuré. Parmi les espèces qu'ils ont définies : A. stationis, A. stenohalis, A. butyri, A. marshalli, A. larveae, A. douglasi, A. anitratus et A. lwoffii, il n'y a guère que les deux dernières qui soient fréquemment rencontrées en bactériologie médicale.

Steel et Cowan (1964) ont proposé de rattacher également Bacillus mallei au genre Acinetobacter. Cette proposition n'a pas rencontré d'écho, probablement en raison du pouvoir pathogène particulier de ce germe ainsi que de la positivité de la réaction de l'oxydase qui en ferait plutôt une Moraxella. Pourtant la plupart des auteurs en font une Pseudomonas, quoique le germe soit immobile.

A notre avis, la définition de Brisou et Prévot (1954) pour le genre Acinetobacter, ne s'impose pas car elle réunit dans un même taxon des espèces glucidolytiques (Ac. anitratus) et des espèces qui n'attaquent pas les sucres (Ac. lwoffii).

L'espèce-type du genre Acinetobacter est Acinetobacter anitratus définie par Brisou en 1957 : diplococcobacille gram-négatif, acilié, oxydase-négatif, attaquant glucose et lactose par voie oxydative, mais incapable de réduire les nitrates en nitrites. Acinetobacter anitratus est certainement l'espèce bactérienne dont la position taxonomique a été la plus controversée, ce qu'illustrent bien le nombre et la diversité impressionnante de synonymes que l'on a utilisé et que l'on utilise encore pour désigner cette espèce ; il est instructif de les passer en revue.

La première description de ce germe sous le nom de Diplococcus mucosus est due à von Lingelsheim (1906). Seeliger (1953) a reconnu en lui Bacterium anitratum. DeBord décrit en 1942 une "nouvelle espèce" à laquelle il donne le nom de Herellea vaginicola qu'il classe parmi les Mimeae. Ewing (1949) démontre qu'il s'agit là aussi de ce qu'on préfère appeler incorrectement Bacterium anitratum décrit par Schaub et Hubert en 1948. A ce dernier, Ferguson et Robert (1951), ainsi que Brooke (1951) font assimiler l'espèce "B5W" ainsi désignée par Stuart et coll. en 1949. En 1951, Piéchaud et coll. décrivent une variété glucidolytique de Moraxella lwoffii qu'ils élèveront plus tard (1956) au rang d'espèce sous le nom de Moraxella glucidolytica bien que, entre-temps, Brisou et Morichaud-Beauchant (1952) aient établi son identité avec Bacterium anitratum, qui devient pour eux en 1953 Achromobacter anitratum. A la même époque (1952), Lemoigne et coll. décrivent Neisseria winogradskyi qui semble être aussi une mésidentification, une de plus, car Villecourt et Jacobelli (1954) établissent sa similitude avec Moraxella lwoffii var. glucidolytica. En 1959, Véron rebaptise Diplococcus mucosus au Neisseria mucosa qui deviendra Achromobacter mucosus pour Stenzel et Manheim (1963). Entre-temps, Lautrop (1961) fait une proposition inédite en groupant Bacterium anitratum dans le genre Cytophaga. La dernière variation émane de Baumann et coll. qui, en 1968, redéfinissent le genre Acinetobacter et recommandent comme espèce-type Acinetobacter calcoaceticus qu'ils identifient à Acinetobacter anitratus. En résumé : Tableau V.

Tableau V. Genre Acinetobacter

BRISOU et PREVOT, 1954 : création du genre Acinetobacter avec les espèces immobiles du genre Achromobacter.

Proposition : retransférer les espèces non-glucidolytiques dans le genre Achromobacter.

Définition : bâtonnets gram-négatifs, glucidolytiques, oxydase-négatifs, aérobies stricts, achromogènes.

Espèce-type	: <u>Acinetobacter anitratus</u>	Brisou	1957
Synonymes	: <u>Diplococcus mucosus</u>	Lingelsheim	1906
	<u>Herellea vaginicola</u>	DeBord	1942
	<u>Bacterium anitratum</u>	Schaub	1948
	Espèce "B 5 W"	Stuart	1949
	<u>M. lwoffi</u> v. <u>glucidolytica</u>	Piechaud	1951
	<u>Neisseria winogradsky</u>	Lemoigne	1952
	<u>Achromobacter anitratum</u>	Brisou	1953
	<u>Moraxella glucidolytica</u>	Piechaud	1956
	<u>Neisseria mucosa</u>	Véron	1959
	<u>Cytophaga mucosa</u>	Lautrop	1961
	<u>Achromobacter mucosus</u>	Stenzel	1963
	<u>Acinetobacter calcoaceticus</u>	Baumann	1968

Ces 13 dénominations, et peut-être d'autres qui nous ont échappé, répondant à la même et réelle espèce bactérienne, déroutent la plupart des bactériologistes cliniques.

A notre avis, il serait judicieux d'en rester à l'appellation de Acinetobacter anitratus qui nous paraît la plus répandue et qui a déjà une individualité en infectiologie.

Selon toute vraisemblance, les infections à Acinetobacter sont endogènes (69, 140). Certains auteurs les considèrent comme primaires en particulier chez les personnes âgées ou chez des sujets dont la résistance est diminuée (3, 65, 219, 227, 286, 290). Les Acinetobacter ont été fréquemment mis en cause dans des méningites (67, 75, 293, 218, 343, 102, 319, 3 4, 133, 199, 236), des septicémies (293, 301, 81, 162, 100, 281) des endocardites (279, 317, 237, 189, 282, 159), des pneumonies (130, 110, 324) des infections uro-génitales (72, 74, 63, 328, 249, 149, 140, 196), des infections post-traumatiques (7, 318, 132, 226, 42, 140) des conjonctivites (74, 244, 50), des abcès du cerveau (340, 259) des gastro-entérites (325), des pleurésies (197), des thrombophlébites (294) etc.

En dehors d'Acinetobacter anitratus, les autres espèces d'Acinetobacter mentionnées plus haut ne semblent pas avoir pour le moment un impact en bactériologie médicale. On n'entendra probablement jamais parler, car le comité international de Taxonomie a décidé que le genre Acinetobacter ne doit se rapporter qu'à une seule espèce, Acinetobacter calcoaceticus, qui regroupe aussi bien Ac-

netobacter anitratus et Acinetobacter lwoffii (Lessel, 1971) que les espèces moins connues. Cette ukase nous semble procéder d'une simplification exagérée.

Nous estimons que le genre Acinetobacter ne devrait réunir que les espèces glucidolytiques, les espèces qui n'attaquent pas le glucose doivent être regroupées dans le genre Achromobacter. Aussi, serion-nous amenés à définir les Acinetobacter comme suit : bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, oxydase-négatifs, glycolytiques, se développant bien sur les milieux ordinaires où ils donnent des colonies eugoniques achromogènes.

Nous avons identifié 80 souches pouvant être qualifiées d'Acinetobacter. Elles se caractérisent, outre les caractères cités plus haut, par : la croissance sur les milieux biliés à 5 %, l'utilisation du citrate, la production d'arginine-dihydrolase et l'absence de protéinase. En plus du glucose, le lactose est dégradé systématiquement mais tardivement. La résistance à la pénicilline est de règle. Des tests de routine courants tels que le caractère hémolytique et la production de nitrites ont permis de reconnaître les espèces et variétés (Tableau VI).

Tableau VI. Acinetobacter, Résultats :

Bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, achromogènes, immobiles, oxydase-négatifs, glycolytiques, non-protéolytiques qui utilisent le citrate et produisent de l'arginine-dihydrolase

Nb souches	69	10	1
Production NO ₂	-	-	+
Hémolyse	-	+	-
	<i>A. anitratus</i>	<i>A. anitratus</i> <i>v. hemolyticus</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.

L'espèce A. anitratus est en fait très homogène et facilement identifiable même en considérant les quelques caractères culturels particuliers de la variété hémolytique.

La souche n° 104 s'est signalée par un caractère remarquable. A l'encontre des autres souches de ce groupe, elle est capable de réduire les nitrates en nitrites. L'épithète "anitratus" ne peut lui être appliquée ! D'autres souches semblables ont été isolées récemment (Piguet, J.D., communication personnelle), y aurait-il lieu d'en faire une espèce à part ?

ALCALIGENES

Le problème taxonomique posé par ce genre se confond, dans l'ordre d'apparition, avec celui des Vibrio, Achromobacter, Lophomonas, Comamonas et Pseudomonas. Le genre Alcaligenes a été proposé par Castellani et Chalmers (1919) pour grouper les bâtonnets gram-négatifs, non glucidolytiques, mobiles ou immobiles, alcalinisant le lait tournesolé. Le caractère le plus controversé de cette définition d'ailleurs très sommaire se rapporte à la mobilité, plus exactement à la disposition flagellaire lorsqu'on s'en rapporte à l'espèce-type : Alcaligenes faecalis.

Les germes que l'on assimilait aux bacilles de Petruschky, décrits à l'origine comme possédant une ciliature pérित्रиче, montraient une ciliature polaire ce qui a conduit Lehmann et Neumann (1927) à douter de l'existence du genre Alcaligenes ; ils regroupent les souches alcaligènes à ciliature polaire dans l'espèce Vibrio alcaligenes Petruschky. Ceci n'a rien résolu, car, par la suite les deux types de ciliature, polaire et pérित्रиче, ont été régulièrement décrits (65, 64, 167, 207, 204, 295, 246, 332, 239, 333).

Les vrais Alcaligenes c'est-à-dire les formes pérित्रичеs, peuvent être définies d'après Sarkar et coll. (1959), Ewing et Johnson (1960) Thibault (1961) comme suit : bâtonnets gram-négatifs, mobiles, non-glucidolytiques, non-protéolytiques, aérobies stricts, poussant sur milieux ordinaires et sur gélose de Mac Conkey, utilisant le citrate comme seule source de carbone, réduisant généralement les nitrates et donnant des réactions d'oxydase et de catalase positives.

Le genre Alcaligenes ne figure pas dans la classification de Prévot. En effet Brisou et Prévot (1954) ont intégré les souches mobiles du genre Alcaligenes dans celui des Achromobacter. Cette conception n'est guère acceptée (151, 245) en raison surtout de la réaction de l'oxydase, qui est positive pour les Alcaligenes et négative pour les Achromobacter (92, 332). Par contre d'autres auteurs (330) reconnaissent une réaction d'oxydase positive aussi bien chez Alcaligenes que chez Achromobacter.

La distinction entre ces deux genres devient aléatoire. L'espèce la plus connue est incontestablement Alcaligenes faecalis. Il s'agit de bâtonnets gram-négatifs, mobiles, pérित्रичеs, non-glucidolytiques et non-protéolytiques que Petruschky (1896) a isolé de selles humaines et a décrit sous le nom de Bacillus faecalis alcaligenes ; ils ont constitué l'espèce-type du genre Acaligenes (58). Leur histoire est aussi controversée que celle du genre Acaligenes. La confusion qui en a résulté est illustrée par le grand nombre de souches considérées comme "Alcaligenes faecalis" et déposées dans les diverses collections, souches qui sont pour la plupart à ciliature lophotrichе (295).

Une deuxième espèce, Alcaligenes denitrificans, a été individualisée par Leifson et Hugh en 1954. Elle se rapporte à ces bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, non-glucidolytiques, mus par des cils pérित्रичеs et se distingue de A. faecalis par son aptitude à réduire les nitrates et les nitrites en azote gazeux ainsi que sa faculté de se développer en anaérobiose en présence de nitrate comme seule source d'azote.

La troisième espèce, Alcaligenes odorans, a été d'abord décrite sous le nom de Pseudomonas odorans, puis elle fut redéfinie comme Alcaligenes par Malek, Radochova et Lysenko (1963). Il s'agit en effet de bâtonnets gram-négatifs, oxydase-positifs, non-glucidolytiques, mobiles par cils pérित्रичеs. Ces propriétés correspondent bien à la définition du genre Alcaligenes. Mais Malek et coll. n'ont caractérisé cette espèce que sur l'étude de 4 souches se ressemblant par des propriétés négatives.

À part la mobilité et la réaction de la catalase, tous les caractères sont variables y compris la réaction de l'oxydase et même l'odeur caractéristique qui a pourtant valu à cette espèce l'épithète "odorans".

Une variété, Alcaligenes odorans var. viridans, a été créée par Mitchell et Clarke (1965). Les 47 souches de bâtonnets gram-négatifs que ces auteurs ont

caractérisées se distinguent d'*Alcaligenes odorans* par une décoloration verdissante autour des colonies sur gélose au sang et par une agréable odeur de pomme. Les réactions de la catalase et de l'oxydase, la production d'hydrogène sulfuré, l'utilisation du citrate et du malonate constituent des caractères positifs pour toutes les souches. Les activités gélatinasiq, lipolytique, amylasique, uréasique, la désamination de la phénylalanine, la décarboxylation des acides aminés, l'oxydation du gluconate, la production d'indole, les réactions MR et VP et la dégradation des Hydrates de carbone constituent des caractères négatifs.

Bacillus bronchisepticus de Ferry (1912) est devenu *Alcaligenes bronchisepticus* dans le Bergey's Manual (1923, 1st. ed.). Après avoir passé tour à tour dans les genres *Brucella*, *Haemophilus* et *Bordetella* le germe est réincorporé dans le genre *Alcaligenes* (68) quoique ses caractères cultureux et surtout morphologiques soient en faveur de son maintien parmi les *Parvobacteriaceae*. Il se distingue principalement des autres *Alcaligenes* par son pouvoir uréolytique. On l'isole fréquemment, paraff-il, de bronchites et de bronchopneumonies des animaux, notamment rongeurs et chiens. On l'appelle aussi *Alcaligenes bronchicanis*.

Parmi les espèces d'*Alcaligenes* énumérées dans le Bergey's Manual, il n'y a que *A. faecalis* qui corresponde à la définition moderne des *Alcaligenes*. Les autres sont soit immobiles (*A. viscolactis*, *A. metalcaligenes*, *A. marshallii*), soit mobiles, mais proteolytiques (*A. bookeri* et *A. recti*) s'excluant ainsi du genre *Alcaligenes*. Le Tableau VII donne une récapitulation de ce qu'il convient de retenir.

Tableau VII. Genre *Alcaligenes*

CASTELLANI et CHALMERS, 1919 : bâtonnets gram-négatifs, non-glucidolytiques, mobiles ou immobiles, alcalinisant le lait tournesolé. Type d'insertion flagellaire ?

Espèce-type	:	<i>Alcaligenes faecalis</i>	Castellani	1928
Synonymes	:	<i>B. faecalis alcaligenes</i>	Petruschky	1896
		<i>Vibrio alcaligenes</i>	Lehmann	1927
		<i>Achromobacter faecalis</i>	Brisou	1954
		<i>Lophomonas alcaligenes</i>	Galarneault	1956
Autres espèces	:	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	Leifson	1954
		<i>Alcaligenes odorans</i>	Malek	1963
		<i>Alc. odorans</i> v. <i>viridans</i>	Mitchell	1965

Proposition : inclusion des pseudomonades alcalinisantes (*Ps. alcaligenes*, *Ps. pseudo-alcaligenes*, *Ps. vesiculare*, *Ps. diminuta*, *Ps. putrefaciens*, *Ps. acidovorans*) dans le genre *Alcaligenes*.

Définition : bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, mobiles, non glucidolytiques, non protéolytiques, oxydase-positifs, nitrate-réducteurs.

Il a été précisé plus haut à quel point l'identification des espèces du genre Alcaligenes et des espèces alcalinisantes du genre Pseudomonas est confuse. Nous n'avons pas réussi à tirer de la bibliographie suffisamment de renseignements, descriptions ou caractères différentiels tranchants à propos des espèces Ps. acidovorans, Ps. diminuta, Ps. vesiculare, Ps. alcaligenes, Ps. pseudoalcaligenes, Ps. putrefaciens et les espèces Alcaligenes faecalis, A. denitrificans, A. odorans, A. bronchosepticus, ainsi que des Comamonas ou Lophomonas. Aussi ne sommes-nous pas en mesure de dresser un tableau synoptique de leurs caractères distinctifs. Mais, au fait, quelles conclusions pratiques convient-il de tirer ? après avoir identifié les souches appartenant aux genres Acinetobacter et Moraxella parmi les souches non-glucidolytiques de notre collection, il nous restait un ensemble de 23 souches, toutes mobiles et oxydase-positives pouvant de ce fait correspondre soit au genre Pseudomonas soit au genre Alcaligenes.

Selon les données bibliographiques, le diagnostic différentiel entre ces deux genres est d'ordre morphologique. Les Pseudomonas doivent leur mobilité à une ciliature polaire, monotriche ou lophotriche, tandis que les Alcaligenes auraient des cils à disposition péritriche. Or, toutes nos souches en cause ici ont présenté à l'examen une ciliature polaire de 1 à 3 flagelles. Devrions-nous en conclure que ces souches sont des Pseudomonas ? Nous devrions en déduire que le genre Alcaligenes n'existe pas en bactériologie médicale ou que l'incidence des Alcaligenes serait si faible qu'on n'en trouve aucune pendant plus d'une année d'activité dans un laboratoire important d'analyses de routine. Ce serait là une conclusion certainement erronée.

La conception que nous tentons de dégager de cet imbroglio est basée sur une étude historique et sur des constatations pratiques. Du point de vue historique, on notera que le mode de ciliature des Alcaligenes, fut, dès la description de l'espèce-type par Petruschki, le caractère le plus controversé tandis que l'unanimité a toujours existé quant à la ciliature polaire des Pseudomonas. C'est ainsi que les auteurs ont été poussés à créer de nouvelles espèces de Pseudomonas pour désigner les souches non-glucidolytiques et mobiles par ciliature polaire. Il en est résulté une dilution excessive du genre Pseudomonas par l'adjonction de nombreuses espèces "Alcaligenes" aux espèces glucidolytiques classiques. Aujourd'hui on désigne souvent des germes identiques par les termes Alcaligenes et Pseudomonas, ce qui met le bactériologiste clinique dans l'embarras, et l'incite à ne pas leur reconnaître un caractère pathogène. Or, ces germes existent ; on les isole de produits pathologiques ; le laboratoire établit leur spectre de sensibilité aux antibiotiques mais les publications les concernant restent rares.

Pour redonner une individualité à ce groupe de germes, nous suggérons de les séparer du genre Pseudomonas, dont la définition deviendrait d'ailleurs moins équivoque. Le genre ne comprendrait alors que des espèces glucidolytiques. Quant aux espèces non-glucidolytiques ou alcalinisantes en milieu standard de Hugh et Lefson, oxydase-positives et mobiles, on a tout intérêt à les classer dans le genre Alcaligenes sans tenir compte du nombre et de la disposition des organes locomoteurs, caractères qui de toute façon sont difficiles à déterminer en routine. Il convient de répéter que, dans la pratique, nous n'avons trouvé que des souches à ciliature polaire monotriche ou lophotriche ; nous n'excluons cependant pas qu'il puisse exister des souches à ciliature péritriche, mais qui doivent être extrêmement rares.

Les 25 souches alcaligènes que nous avons rencontrées sont toutes des bâtonnets gram-négatifs, non-glucidolytiques, oxydase-positives et mobiles par des flagelles polaires monotriches ou multitriches. En choisissant comme critères de différentiation : le mode respiratoire, la réduction des nitrates, le pouvoir gélatinolytique, la mise en évidence de l'arginine-dihydrolase et l'activité acylamidase, nous avons pu établir 8 biotypes dont quelques-uns correspondent bien à des espèces connues (Tableau VIII).

Tableau VIII. Alcaligenes, Résultats :

Bâtonnets gram-négatifs, non-glucidolytiques, aérobies stricts, mobiles, oxydase-positifs, non chromogènes.

Nb souches	10	4	2	6	3
Nitrates	+	+	+	+	-
Azote gazeux	+	-	-	-	-
Acylamidase	-	+	+	-	-
Gélatinase	-	-	+	-	-
	<i>A.denitrificans</i>	<i>A.faccalis</i>	<i>A.putrefaciens</i>	<i>Alcaligenes</i> sp1	<i>Alcaligenes</i> sp2

LES PSEUDOMONADES ALCALINISANTES

Dans le chapitre consacré au genre Pseudomonas, nous avons relevé l'inopportunité de maintenir dans ce genre des espèces non-glucidolytiques. Nous avons également discuté le problème des flagelles, pour conclure que la ciliation des espèces d'Alcaligenes est plutôt polaire que péritriche. Nous avons écarté du genre Pseudomonas les espèces alcalinisantes et proposons de les intégrer dans le genre Alcaligenes. Nous précisons toutefois que nous n'avons retrouvé dans la pratique aucune des espèces dont il est question ci-après ce qui suggère que leur importance en bactériologie médicale serait minime. Nous les passons tout de même en revue.

Pseudomonas acidovorans, décrite par den Dooren de Jong (1926), fait partie, avec Pseudomonas testosteroni, du groupe nutritionnel "acidovorans" (320). Les noms de Pseudomonas indoloxydans (138) et Pseudomonas desmolytica (129) seraient des synonymes de Pseudomonas acidovorans. D'après Stanier et coll. (1966), Comamonas terrigena (Hugh, 1962) appartiendrait également à cette espèce. Elle possède les propriétés suivantes : ciliation lophotriche, absence d'action glucidolytique, accumulation du poly- β -hydroxybutyrate comme réserve cellulaire, absence d'action lécithinase et gélatinolytique, lipolyse (Tween 80), "respiration-nitrate", réduction des nitrates en nitrites, inhibition de la croissance à 42° C et 4° C, utilisation du citrate et réaction de l'oxydase positive. Cette espèce peut se rencontrer dans des produits pathologiques humains (116, 123, 273, 275).

Pseudomonas alcaligenes (Monias, 1928) a réuni des souches de bâtonnets gram-négatifs, monotriches, achromogènes sur milieux ordinaires, non-glucidolytiques, catalase et oxydase-positifs, réduisant les nitrates en nitrites, utilisant le citrate comme seule source de carbone, indole et H₂S négatifs, non-gelatinolytiques, ne produisant pas de lipase, uréase, lécithinase, décarboxylase et inaptes à se développer à 42° C, (164, 166, 174, 332). Pseudomonas alcaligenes semble posséder un intérêt médical (116, 164).

Pseudomonas diminuta Leifson et Hugh (1954) présente une flagellation particulière : l'unique flagelle polaire ondulée présente une longueur d'onde et une amplitude beaucoup plus faible que les flagelles normaux. En outre Pseudomonas diminuta se singularise par l'absence de certaines réactions aux tests de routine habituels, plus particulièrement par son incapacité à former de l'acide à partir des glucides (ethanol excepté). Ballard et coll. (1968) ont caractérisé Pseudomonas diminuta sur la base de l'étude nutritionnelle : le germe exige de la cystine comme facteur nutritif et parmi les sources de carbone, il n'utilise que l'histidine et le pantothénate. D'après Pickett et Pedersen (1970), de l'acide pourrait être formé à partir de l'arabinose. Hugh (1970) a cultivé cette espèce à partir de sang (endocardite), d'urine du tractus respiratoire, et surtout de milieux aquatiques.

Pseudomonas pseudoalcaligenes a été individualisé par Stanier et coll. (1966) grâce à son spectre nutritionnel. Mandel (1966) mentionne que le quotient guanine-cytosine de l'ADN est de 63 % pour Pseudomonas pseudoalcaligenes, ce qui le distingue de Pseudomonas alcaligenes pour laquelle ce quotient est de 66 %. L'identification de Pseudomonas pseudoalcaligenes reste difficile. On peut retenir les caractères suivants : mobilité par cil polaire unique, inclusions d'acide poly-bêta-hydroxybutyrique, absence d'activité glucidolytique, catalase et oxydase positives ; gélatinase, lipase, lécithinase, décarboxylase négatives ; réduction des nitrates en nitrites et aptitude au développement à 42° C. Seul ce dernier caractère et éventuellement la mise en évidence d'inclusions sudanophiles permettraient, en dehors des tests d'assimilation, de distinguer Pseudomonas pseudoalcaligenes de Pseudomonas alcaligenes. La distinction entre ces deux espèces reste d'ailleurs problématique face aux divers Alcaligenes.

Pseudomonas putrefaciens (Long et Hammer, 1941) a été d'abord décrit sous le nom d'Achromobacter putrefaciens. Cette espèce se caractérise principalement par une production abondante d'hydrogène sulfuré et par l'absence d'activité glucidolytique. D'autres tests sont positifs : la réduction des nitrates en nitrites, la production d'une gélatinase et d'une ornithine-décarboxylase (123). A cette espèce correspondraient les souches "1 b" de King (1964) et celles décrites par von Graevenitz et Simon (1970). On trouve Pseudomonas putrefaciens dans les produits laitiers avariés (216), mais aussi dans les produits pathologiques humains (136, 187).

Pseudomonas testosteroni, du groupe "acidovorans", a reçu l'épithète "testosteroni" en raison de son aptitude à se développer sur milieu de base, ne renfermant comme source organique que de la testostérone ou des stéroïdes proches (232). Seule cette particularité nutritionnelle et une différence du rapport guanine-cytosine la distinguent de Pseudomonas acidovorans (229).

Pseudomonas vesicularis a été d'abord décrit dans le genre Corynebacterium (53), puis Galarneault et Leifson (1964) ont démontré qu'il s'agissait d'une Pseudo-

monas, Ballard et coll (1968) la rapproche de Pseudomonas diminuta en raison de similitudes d'ordre nutritionnel. Dans la pratique, il n'y a que la production de pigments caroténoïdes et éventuellement la faible réaction de l'oxydase qui pourraient permettre une distinction entre cette espèce et Pseudomonas diminuta. Les deux espèces d'ailleurs ne se rencontrent guère en bactériologie clinique (275).

CHROMOBACTERIUM

Bergonzinie (1879) emploie le terme de Chromobacterium pour désigner les bacilles pigmentés du 'genre Bacterium'. Les espèces qu'il a décrites étaient en fait des Pseudomonas. Sneath (1956) définit ce genre comme suit : Bâtonnets gram-négatifs non sporulés, aérobies, se développant bien sur milieux ordinaires, mobiles par cils polaires et latéraux, produisant un pigment violet, insoluble dans l'eau et dans le chloroforme, mais soluble dans l'éthanol. Pour Prevot (1961), ce genre fait partie de la tribu des Chromobactereae de la famille des Pseudomonadaceae. Il ne s'agit probablement pas d'un groupe naturel de bactéries (314, 315), car les espèces qui le composent sont fondamentalement différentes (Tableau IX).

Tableau IX. Genre Chromobacterium

Groupe hétérogène de bactéries :

- Chromobacterium violaceum, Berganzini 1880, est fermentatif pour les glucides.
- Chromobacterium lividum, Sneath 1966, oxydase-négatif, mobile, oxydatif pour les glucides.
- Chromobacterium typhiflavum, Dresel 1927, idem, pigment jaune, nitrate-réducteur.

Résultats : 2 souches atypiques à pigment jaune.

Définition retenue : bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, oxydase-négatifs, glucidolytiques, chromogènes à pigments jaunes ou violacés, non diffusibles.

L'espèce décrite en 1880 par Bergonzinie, Chromobacterium violaceum, ne saurait entrer dans le cadre de notre étude en raison de son caractère fermentatif pour les glucides.

Chromobacterium lividum est également producteur de violacéine, se distingue de Chr. violaceum par son type respiratoire aérobie strict et par son métabolisme oxydatif des glucides. Il a également une ciliature mixte, tantôt polaire, tantôt péritriche (314). Cette espèce se distingue des Pseudomonas par l'absence de l'oxydase (68).

Il en est de même pour Chromobacterium typhiflavum qui a été décrit comme Bacterium typhiflavum, supposé variété chromogène du bacille typhique (83) :

bâtonnets gram-négatifs, mobiles par ciliature peritriche, se développant sur les milieux ordinaires et sur gélose de Mac Conkey, donnant des colonies à pigment jaune-ocre non-diffusible, catalase-positive, oxydase-négative, attaquant le glucose, le maltose et la mannitol par voie oxydative, et réduisant les nitrates en nitrites (274, 275). Ce germe, entre 1930 et 1935 a suscité beaucoup d'intérêts, car pendant assez longtemps il fut considéré comme un mutant de Salmonella typhi. La difficulté d'établir expérimentalement, sur l'animal, le pouvoir pathogène de Salmonella typhi explique l'incertitude du bactériologiste médical.

Nous avons rencontré deux souches chromogènes à pigments jaunes non diffusibles, les Nos 242 et 280 : bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, faiblement glucidolytiques, oxydase-négatifs, correspondant donc bien à la définition du genre Chromobacterium. Elles ne répondaient, par contre, à aucune définition spécifique dans ce groupe ; aussi les considérons-nous comme des souches atypiques.

COMAMONAS

Les germes désignés par ce nom générique font partie du complexe-alcaligène. Par souci de ne pas trop diluer le genre Pseudomonas, Galarneault et Leifson (1956) ont proposé la création du genre Lophomonas pour grouper les souches de bâtonnets gram-négatifs hétérotrophes et non-glucidolytiques qui se distinguent des Alcaligenes par une ciliature lophotriche. La seule espèce que Galarneault et Leifson ont définie était L. alcaligenes, probablement connue autrefois sous le nom de Vibrio alcaligenes (202), lui-même identique à Vibrio percolans (248).

Pour David et Park (1962) le nom générique Lophomonas n'est pas valable, ayant été antérieurement accordé à un groupe de protozoaires, aussi ont-ils proposé de la remplacer par celui de Comamonas. L'espèce-type qu'ils ont désignée était C. percolans (Mudd et Warren).

A la même époque, Hugh (1962) établit l'identité de Vibrio terrigenus (Gunther 1894) et de V. percolans (Mudd et Warren 1923) qu'il considère comme synonyme ultérieur. Par conséquent, il propose de remplacer le nom de Comamonas percolans par celui de Comamonas terrigena (Gunther 1894). Cette espèce de bâtonnets gram-négatifs, lophotriches, non-glucidolytiques et non-protéolytiques, se distingue principalement par la respiration-nitrate, la réduction des nitrates en nitrites, et la production tardive d'acide à partir du glycérol. En outre, elle se développe bien sur les milieux usuels et donne une réaction positive de l'oxydase et de la catalase.

Nous n'avons trouvé aucune souche correspondant à cette description. Mais nous pensons que la place de cette espèce serait plutôt dans le genre Alcaligenes dont elle possède la plupart des caractères. Seul le type d'insertion flagellaire serait différent, caractère qui n'a pas le poids taxonomique qu'on lui souhaitait.

EMPEDOBACTER

Ce groupe n'offre pas pour le moment d'intérêt en bactériologie médicale ses représentants sont souvent isolés de conserves de poisson ; ce sont des flavobactéries immobiles, glucidolytiques, possédant une catalase très active, mais pas d'oxydase, caractères qui suffisent à les distinguer des autres bacté-

ries flavo-chromogènes (34, 38). L'espèce-type, Empedobacter aquatilis est très fréquente dans le milieu aquatique. Elle est gélatinolytique, glucidolytique (glucose, lactose, maltose, saccharose), mais ne produit pas d'indole et ne transforme pas les nitrates. Nous n'avons caractérisé aucune souche correspondant à cette espèce.

FLAVOBACTERIUM

Ce genre a été créé par Bergey et coll. (1923) pour grouper des espèces de bâtonnets saprophytes gram-négatifs mobiles par cils péritriches ou immobiles, généralement protéolytiques et modérément glucidolytiques, élaborant des pigments jaunes ou jaunes-oranges non-diffusibles, de nature caroténoïde. Pour prolonger la définition de Bergey et coll., Brisou (1953) a séparé les espèces immobiles, qui se sont révélées par la suite oxydase-négatives, pour les grouper dans le genre Empedobacter. Aucune des 26 espèces de Bergey et coll. ne semblait avoir une incidence en bactériologie médicale. L'intérêt du genre renaît avec la description par King (1959) de l'espèce Flavobacterium meningosepticum, bien que, déjà Sherwood et coll. (1933) puis Shelmann et Johnson (1944), ainsi que Vandepitte et coll. (1958), de même que Brody et coll. (1958) l'aient isolée de méningites, surtout chez le nouveau-né. L'espèce fut dès lors souvent retrouvée (6, 57, 11, 257, 326, 347). Son importance étiologique et son caractère épidémique semblent maintenant bien établis. Flavobacterium meningosepticum se distingue des autres bâtonnets gram-négatifs flavo-chromogènes (certaines Enterobacteriaceae, Aeromonas, Chromobacterium, Empedobacter, Xanthomonas) par sa réaction positive de l'oxydase, son faible pouvoir glucidolytique, son immobilité et son aptitude à produire de l'indole ; en outre, il ne se développe ni à 42° C, ni sur les milieux sélectifs, celui de Mac Conkey y compris ; il n'a pas d'uréase et de nitrate-réductase, mais produit de la gélatinase.

Nous avons identifié 7 souches correspondant à la définition générique de Flavobacterium : bâtonnets gram-négatifs, chromogènes à pigments jaunes non diffusibles (carotène), immobiles, oxydase-positifs et aérobies stricts.

Cinq souches peuvent être identifiées à Flavobacterium meningosepticum. Elles sont toutes indole-positives donnant ainsi la réaction la plus caractéristique de l'espèce. Elles sont incapables de se développer sur des milieux contenant des sels biliaires (Mac Conkey), n'utilisent pas le citrate et ne transforment pas le gluconate. Elles possèdent des caractères positifs : arginine-dihydrolase, gélatinase, désoxyribonucléase et amylase.

Deux autres souches se distinguent nettement de l'espèce Flavobacterium meningosepticum par l'absence de production d'indole (Tableau X).

Tableau X. Genre Flavobacterium

BERGEY, 1923 : bâtonnets gram-négatifs, mobiles ou immobiles, généralement protéolytiques, modérément glucidolytiques, élaborant des pigments jaunes non diffusibles.

Définition actuelle : bâtonnets gram-négatifs, immobiles, oxydase-positifs, aérobies stricts, produisant des pigments caroténoïdes.

Espèce-type : *Flavobacterium meningosepticum* King 1958

Résultats :

Nb souches	5	1	1
MacConkey	-	+	-
Indole	+	-	-
H ₂ S	-	+	-
	<i>F. meningosepticum</i>	<i>Flavobacterium</i> sp-1	<i>Flavobacterium</i> sp-2

MALLEOMYCES

La seule espèce de ce genre, "Bacillus mallei" agent de la morve, maladie équine, n'a pas encore trouvé une position satisfaisante dans la taxonomie. Placée tour à tour dans les genres Actinobacillus (46), Pfeifferella, (47), Malleomyces (284), Loefflerella (160), Acinetobacter (322), Redfearn et coll. (1966) proposent de la classer dans le genre Pseudomonas en raison de caractères nutritionnels et sérologiques semblables à ceux de Pseudomonas pseudo-mallei. Les rapports guanine-cytosine très proches (229) et la similitude de pathogénicité sont également en faveur de cette proposition. Par contre, l'immobilité de l'espèce est en contradiction avec la définition générique des Pseudomonas. Aussi les opinions restent-elles partagées.

Les principaux caractères d'identification de B. mallei sont les suivants : absence de mobilité, inclusions cellulaires sudanophiles, anaérobiose facultative en présence de nitrates, culture achromogène et anhemolytique, croissance lente sur milieux ordinaires, catalase et oxydase positives, arginine-dihydrolase, dégradation oxydative du glucose et du mannitol, non oxydation du gluconate et réduction des nitrates en nitrites. Probablement en raison des conditions écologiques, nous n'avons trouvé aucune souche pouvant être identifiée à Malleomyces mallei.

"MALTOPHILIA"

L'espèce Pseudomonas maltophilia a été décrite par Hugh et Ryschenkow (1960; 1961). Elle a été jusqu'à la confondue avec les espèces du groupe Alcaligenes-Achromobacter. Ce sont des bâtonnets gram-négatifs, mobiles qui oxydent le maltose et le mannose, mais n'attaquent que tardivement le glucose ; ils sont catalase-positifs, oxydase-négatifs, liquéfiant la gélatine, utilisant le citrate, mais ne produisant ni uréase, ni hydrogène sulfuré, ni azote à partir des nitrates. Ce germe semble être ubiquitaire, on le retrouve fréquemment dans les produits pathologiques les plus divers : selles, expectorations, urines, hémocultures, liquides de ponction, pus, etc... (181).

Nous avons caractérisé 48 souches de Ps. maltophilia provenant d'hémocultures, de LCR, de liquide pleural, de prélèvements de plaies, de pus, de prélèvements de gorge, d'expectorations, d'urines, et de lait maternel. Ce sont des bâtonnets gram-négatifs, mobiles par des flagelles polaires en touffe. Leurs colonies lisses et bombées offrent des cercles concentriques gris-jaunes ou gris-verdâtres qui donnent aux colonies confluentes un aspect de mosaïque. Le germe est aérobic obligé, n'utilise pas les nitrates comme seule source de carbone et n'assimile le citrate qu'en présence de méthionine. Il est mésophile et se développe bien sur les milieux inhibiteurs (1 % de sels biliaires ou 1 % de TTC ou 0,08 % de cétrimide p.ex.).

Parmi les tests biochimiques, la dégradation oxydative et préférentielle du maltose, la transformation de la lysine en cadavérine et l'hydrolyse de l'esculine permettent de différencier Maltophilia des autres Pseudomonadaceae. D'autres tests : catalase, gélatinase, lipase, désoxyribonucléase sont également positifs, pour toutes les souches, mais ils ne sont pas spécifiques pour l'espèce. La réaction de l'oxydase, l'oxydation du gluconate, l'oxydation de certains sucres (lactose, saccharose, mannitol, glycérol, amidon), la dégradation de l'ornithine et de l'arginine, l'activité acylamidase, la réduction des nitrates, la production d'indole, la formation de H₂S constituent des caractères négatifs pour toutes les souches.

Nous proposons l'exclusion de Pseudomonas maltophilia du genre Pseudomonas et la création d'un genre Maltophilia en raison des caractères particuliers de ces germes, caractères qui justifient un genre plutôt qu'une espèce : négativité de la réaction de l'oxydase, oxydation préférentielle du maltose et dépendance vis-à-vis de la méthionine. Les Pseudomonas donnent une réaction positive de l'oxydase, oxydent préférentiellement le glucose et ne dépendent d'aucune substance particulière en raison de leur extraordinaire versatilité métabolique.

MIMEAE

DeBord (1939) a isolé de prélèvements génitaux des bâtonnets courts, pléomorphes, souvent diplococcoides, gram-négatifs ou gram-variables, rappelant singulièrement les gonocoques. Il proposa de créer pour ces germes la tribu de Mimeae, sans préciser à quelle famille cette tribu devrait appartenir. Il reconnaît néanmoins 3 genres représentés chacun par une espèce : Mima polymorpha, Herellea vaginicola, Colloïdes anoxydans ; puis il décrit plus tard (1943) une variante oxydase-positive de M. polymorpha. Malheureusement DeBord ignorait les travaux de Lwoff (1939) et de Audureau (1940) sur les Moraxella. En effet, Moraxella duplex var. nonliquefaciens de Lwoff est synonyme prioritaire

de Mima polymorpha var. oxydans et Moraxella lwoffii de Audureau est équivalent à Mima polymorpha. Quant à Herellea vaginicola, elle est identique à Bacterium anitratum autrement dit à Moraxella lwoffii var. glucidolytica. La troisième espèce, Colloïdes anoxydase, est une Enterobacteriaceae : Citrobacter freundii (154).

Ces considérations ont amené Henriksen (1963) à déclarer Mima polymorpha "appellation illégitime" et Herellea vaginicola "nomen dubium", puis à exclure les Mimeae du système taxonomique.

La confusion concernant la taxonomie des Moraxella oxydase-négatives et des Mimeae n'est pas prête à se dissiper aujourd'hui encore, chaque système ayant ses adeptes. Une solution de compromis est pourtant offerte avec la création du genre Acinetobacter (41), qui groupe des espèces de coccobacilles gram-négatifs, oxydase-négatives, immobiles, inertes vis-à-vis du glucose ou dégradant ce sucre par voie oxydative. Dans ces deux espèces, A. lwoffii et A. anitratus reconnues aujourd'hui par de très nombreux auteurs, on peut reconnaître Moraxella lwoffii et Mima polymorpha pour la première, puis Herellea vaginicola, et Moraxella lwoffii var. glucidolytica pour la seconde. Pour éviter des redites, nous renvoyons aussi aux exposés concernant Achromobacter et Acinetobacter.

MORAXELLA

En 1939, Lwoff démembre le genre Hemophilus, trop hétérogène, et propose la création du genre Moraxella pour grouper les bâtonnets gram-négatifs immobiles, généralement disposés en diplobacilles, non-glucidolytiques, n'exigeant pas de l'hématine ou de la phosphopyridine nucléotide comme facteurs de croissance. Lwoff place dans ce nouveau genre deux espèces : Moraxella lacunata et Moraxella duplex avec ses variétés liquefaciens et non-liquefaciens. Dès ce moment la taxonomie devient des plus controversée : elle se recouvre avec celle des "Mimeae", puis avec celle des Achromobacter-Acinetobacter, notamment en ce qui concerne les "Moraxelles oxydase-négatives". Il en est ainsi de l'espèce Moraxella lwoffii ajoutée à ce genre par Audureau en 1940, ainsi que de Moraxella glucidolytica (Piéchaud et coll. 1956) d'abord décrite comme variété de M. lwoffii (Piéchaud et coll. 1951). Aujourd'hui ces deux espèces ne sont plus considérées comme moraxelles que par l'école de Lwoff, mais la plupart des auteurs reconnaissent actuellement en ces espèces Acinetobacter lwoffii et Acinetobacter anitratus. En effet, la réaction négative de la cytochrome-oxydase, l'absence d'exigences nutritives particulières, l'aptitude à croître sur les milieux contenant des sels biliaires, et le caractère ubiquitaire separent nettement ces espèces du genre Moraxella.

Plus récemment Boevre (1963, 1967) Henriksen et Boevre (1967, 1968) puis Baumann et coll. (1968), se basant sur l'étude de l'ADN et des études de transformation, entre certaines Neisseria, notamment N. catarrhalis, N. caviae, et N. ovis, et les Moraxella, proposent d'inclure ces "fausses-Neisseria" dans le genre Moraxella qu'ils placent dans la famille des Neisseriaceae. Nous ne pensons pas pouvoir les suivre pour l'instant sur cette voie pour le moins audacieuse.

Pour la plupart des auteurs, le genre Moraxella ne contient que des bâtonnets gram-négatifs non-flagellés, aérobies stricts donnant une réaction positive de l'oxydase (154). A côté des espèces classiques, d'autres ont fait leur entrée dans ce genre. Nous les décrivons toutes dans l'ordre d'ancienneté, si ce n'est d'importance (Tableau XI).

Tableau XI. Genre Moraxella

Lwoff, 1939 : bâtonnets gram-négatifs, immobiles, non glucidolytiques, disposés en diplobacilles.

Espèces classiques :

<i>Moraxella lacunata</i>	Morax-Axenfeld	1896
<i>Moraxella duplex</i>	Petit	1900
<i>Moraxella bovis</i>	Jonas-Little	1923

Fausse Moraxelles : *Achromobacter-Acinetobacter*

Définition actuelle : bâtonnets gram-négatifs, immobiles, aérobies strictes, oxydase-positifs non-glucidolytiques.

Espèces nouvelles :

<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	Flamm	1957
<i>Moraxella amyolytica</i>	Ching	1966
<i>Moraxella osloensis</i>	Henriksen, Boevre	1967
<i>Moraxella kingii</i>	Henriksen, Boevre	1968
<i>Moraxella urethralis</i>	Lautrop	1970

Moraxella lacunata correspond aux bacilles découverts indépendamment par Morax (1896), puis par Axenfeld (1896), qui les ont isolés de conjonctivites humaines dans lesquelles leur rôle étiologique est amplement confirmé. Eyre (1899), en raison des "lacunes" qui apparaissent dans les cultures de cette espèce sur la surface du sérum coagulé, a proposé le nom de Bacterium lacunatum pour désigner les diplobacilles de Morax-Axenfeld, M. lacunata se distingue des autres moraxelles par son aptitude à réduire les nitrates en nitrites et par sa sérophilie obligatoire. Certains auteurs distinguent les variétés liquefaciens et non-liquefaciens en fonction du pouvoir gélatinolytique variable.

Moraxella duplex a été décrite en 1900 sous le nom de Bacillus duplex par Petit, qui l'a isolée de conjonctivite compliquée d'ulcération cornéenne. Espèce protéolytique, appelée aussi pour cette raison Moraxella liquefaciens, elle se distingue des bacilles de Morax-Axenfeld par son aptitude à croître aisément sur milieux ordinaires. Scarlett (1916) a reconnu une variété non-liquefaciens, incapable d'hydrolyser la gélatine, variété qui diffère en outre de la var. liquefaciens par les infections naso-pharyngiennes (153) et bronchiques (24) qu'elle engendre.

Moraxella bovis, connue naguère sous le nom de Hemophilus bovis (178) est le plus souvent isolée de conjonctivites et de kératites aiguës chez les ani-

maux, notamment chez les chats et les veaux. Elle diffère aussi de M. lacunata et de M. duplex par la production d'une hémolyse sur gélose au sang et par l'absence de nitrate réductase.

Moraxella polymorpha a été décrite par Flamm en 1957. En 1967, Boevre et Henriksen proposent l'abandon de l'épithète polymorpha, cause de confusion et le remplacent par celui de phenylpyruvica, qui évoque le caractère distinctif principal de cette espèce, c'est-à-dire la transformation de la phénylalanine en acide phénylpyruvique.

Moraxella kingii est la désignation donnée par Henriksen et Boevre (1968) aux moraxelles isolées par E.O. King de prélèvement naso-pharyngiens, d'hémocultures et de lésions osseuses. Elle diffère des autres Moraxella par son caractère bêta-hémolytique et son inaptitude à réduire les nitrates en nitrites, à la croissance sur milieux ordinaires, ainsi qu'à l'absence d'une catalase.

D'autres espèces encore très peu connues ont été proposées : Moraxella osloensis (30), Moraxella saccharolytica (97), Moraxella sp. (21), Moraxella urethralis (196).

Nous avons pu caractériser 15 souches de bâtonnets gram-négatifs, immobiles, aérobies stricts, achromogènes, non glycolytiques et fortement oxydase-positifs qui peuvent être considérés comme Moraxella. L'espèce-type, Moraxella lacunata, n'a pas été isolée, probablement en raison de la rareté des prélèvements ophtalmologiques qui sont soumis à notre laboratoire. Par contre, nous avons identifié d'autres espèces intéressantes (Tableau XII).

Tableau XII. Moraxella (résultats)

MORAXELLA : bâtonnets gram-négatifs, aérobies stricts, oxydase-positifs, non glucidolytiques, achromogènes.

Nb souches	5	3	2	5
APP	+	-	-	-
Amylase	-	+	-	-
Citrate	-	-	+	-
	<u>M. phenylpyruvica</u>	<u>M. amylytica</u>	<u>M. urethalis</u>	<u>Moraxella sp</u>

Un groupe de 5 souches présente la réaction spécifique de Moraxella phenylpyruvica, la transformation de la phénylalanine en acide phénylpyruvique. Ce groupe n'est pourtant pas très homogène car un grand nombre de caractères secondaires sont variables (urée, ADN-ase, croissance en présence de sels biliars, etc.). Trois souches présentent le caractère spécifique de Moraxella amylolytica, l'hydrolyse de l'amidon. Là encore, de nombreux caractères tels que catalase, ADN-ase, nitrites, lecithinase entre autres ne nous permettent pas de considérer cette espèce comme très homogène. Deux souches méritent à notre avis une attention particulière. Elles correspondent à Moraxella urethralis. Conformément à son nom, ce germe fut isolé le plus souvent de prélèvements uréthraux ; c'est là son intérêt, car il est facilement confondu avec Neisseria gonorrhoeae. Les deux espèces ont une même morphologie de leurs colonies : elles donnent une forte réaction positive de l'oxydase et montrent un même comportement négatif vis-à-vis des sucres. Par contre Neisseria gonorrhoeae a des exigences nutritives particulières, contrairement à Moraxella urethralis, qui utilise même le citrate comme seule source de carbone et se développe très bien sur les milieux ordinaires. Enfin nous avons retenu 3 souches de Moraxella sp qui ne correspondent à aucune espèce décrite, et qui pourraient être tout simplement des souches aberrantes.

PSEUDOMONAS

Ce genre, créé par Migula en 1895, comprend au début 11 espèces, nombre qui atteindra 149 dans le Bergey's Manual, 7^{ème} édition et même 200 dans le manuel de Krassilnikov (1959). Par contre, Lysenko (1960) ne décrit que 18 espèces ; Stanier et coll. (1966) se contentent de recenser 11 espèces seulement, compte tenu de la synonymie. Pour les besoins de la bactériologie clinique, il suffit de retenir un nombre restreint d'espèces (Tableau XIII), de garder plus particulièrement celles dont le pouvoir pathogène est établi ou suspecté : Ps. aeruginosa, Ps. fluorescens, Ps. stutzeri, Ps. putida, Ps. ovalis, Ps. cepacia. Quant à Malleomyces mallei, Pseudomonas pseudomallei et Ps. maltophilia, la question de leur appartenance au genre Pseudomonas reste ouverte.

Tableau XIII. Genre Pseudomonas

Migula, 1895 : 11 espèces ; Bergey : 149 ; Krassilnikov : 200

Définition : bâtonnets gram-négatifs, mobiles à l'aide de flagelles polaires, mésophiles, aérobies stricts, oxydase-positifs, glucidolytiques par voie oxydative.

Espèce-type	:	<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	Schroeter	1892
Autres espèces	:	<u>Pseudomonas fluorescens</u>	Fluegge	1886
	:	<u>Pseudomonas putida</u>	Fluegge	1886
	:	<u>Pseudomonas ovalis</u>	Ravenal	1896
	:	<u>Pseudomonas stutzeri</u>	Lehmann	1896
	:	<u>Pseudomonas pseudomallei</u>	Withmor	1913
	:	<u>Pseudomonas cepacia</u>	Burkholler	1950

En traitant les Alcaligenes, nous avons évoqué le problème des pseudomonades alcalinisantes, nous les avons détachées du genre Pseudomonas pour les inclure dans celui des Alcaligenes. Aussi, le genre Pseudomonas, débarrassé des espèces inertes et alcalinisantes, peut être défini comme suit : bâtonnets gram-négatifs, mobiles à l'aide de flagelles polaires, mono ou lophotriches, hétérotrophes, mésophiles, aérobies stricts, oxydase-positifs, dégradant les glucides par métabolisme oxydatif, utilisant le citrate et le malonate comme seule source de carbone et donnant des colonies eugoniques sur les milieux ordinaires.. La définition de l'espèce s'appuie en outre sur le spectre glucidolytique, (glucose, lactose, saccharose, maltose, mannitol et glycérol), l'activité enzymatique (lécithinase, lipase, uréase, gélatinase, ADN-ase et amylase), les aptitudes culturales sur milieux sélectifs (au cétrimide, au TTC) la réduction des nitrates en différents dérivés, la croissance aux températures sélectives, l'utilisation du citrate et du malonate, la décarboxylation des acides aminés (lysine, arginine).

Les espèces que nous avons reconnues peuvent être réparties en deux groupes : d'une part les espèces fluorescentes, d'autre part celles qui ne produisent pas de pigment phénazinique particulier. Nous les énumérons et les caractérisons dans l'ordre alphabétique.

Pseudomonas aeruginosa

La première description homologuée concernant le bacille pyocyanique est attribuée à Schroeter (1892), qui désigne par le nom de Bacterium aeruginosum les bacilles mobiles qu'il a remarqué dans un pus coloré en bleu-vert. D'autre part, on impute à Gessard (1882), l'isolement et la description originale du Bacillus pyocyaneus, microbe responsable de la coloration bleue et verte des linges à pansement due à un pigment hydrosoluble : la pyocyanine. La position taxonomique est clarifiée par Migula (1895), qui place ces germes dans le genre Pseudomonas sous le nom de Pseudomonas pyocyanea, nom évocateur mais qui sera relégué plus tard au rang de synonyme en faveur de Pseudomonas aeruginosa (Schroeter 1872, Migula 1900).

Dans la pratique, l'identification des souches typiques de bacilles pyocyaniques ne présente aucun problème : le plus souvent, le seul caractère pyocyanogène observé sur les milieux d'isolement suffit à poser le diagnostic correct. Par contre, le problème de l'identification des souches atypiques, notamment celle des souches non-pigmentées, préoccupe depuis longtemps les microbiologistes cliniques en raison de l'importance de Pseudomonas aeruginosa dans l'hygiène hospitalière (23, 60, 105, 342). Il semble démontré que l'usage des antibiotiques favorise l'incidence de souches apigmentées dans le milieu hospitalier (104, 299, 304). Dans le but d'identifier ces souches achromogènes, de nombreux procédés ont été proposés pour favoriser la pyocyanogénèse (52, 101, 188, 220, 291) sans qu'un succès total ait été obtenu. De nombreuses souches de Pseudomonas aeruginosa restent définitivement achromogènes, qu'il s'agisse de pigments phénaziniques caractéristiques ou de fluorescéine. De multiples solutions ont été envisagées pour identifier ces germes (Tableau XIV).

Tableau XIV. Pseudomonas aeruginosa

Schoeter, 1872	:	<i>Bacterium aeruginosum</i>
Gessard, 1882	:	<i>Bacillus pyocyaneus</i>
Migula, 1895	:	<i>Pseudomonas pyocyanea</i>
Migula, 1900	:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Souches atypiques achromogènes signalées dès 1923 (Blanc). Augmentation de leur fréquence due à l'usage des antibiotiques, signalée dès 1947 (Seligman).

Tests "spécifiques" :

- Turfit, 1936 : favoriser la pyocyanogénèse.
- Haynes, 1954 : épreuve de croissance à 42°C.
- Haynes, 1951 : oxydation du gluconate
- Hugh et Leifson, 1953 : métabolisme oxydatif du glucose
- Lowbury, 1955 : croissance en présence de cétrimide
- Kovacs, 1956 : réaction de l'oxydase
- Salenka, 1958 : croissance en présence de T.T.C
- Sherris, 1958 : arginine-dihydrolase
- Buhlmann, 1961 : désamidase de l'acétamide
- à ajouter : respiration nitrate

Résultats : 38 souches achromogènes.

Voici quelques tests parmi les plus usuels qui ont été proposés : épreuve de croissance à 42° C (144), oxydation du gluconate (144), démonstration du métabolisme oxydatif du glucose (167), réaction de l'oxydase (192), croissance sélective sur milieu au chlorure de triphényltétrazolium (309), déhydrolase de l'arginine (308), déaminase de l'acétamide (48). En fait, aucun de ces tests n'est absolument spécifique mais, utilisés conjointement, ils permettent l'identification de la quasi-totalité des souches atypiques de Pseudomonas aeruginosa.

Le problème des souches apyocyanogènes de Pseudomonas aeruginosa se confond avec celui des autres Pseudomonas du groupe fluorescent, notamment Pseudomonas putida et Pseudomonas ovalis. En effet, dans le diagnostic de routine, ces diverses espèces sont régulièrement confondues, généralement en faveur de Pseudomonas aeruginosa.

Pour identifier les 38 souches de Pseudomonas aeruginosa atypiques, que nous avons rencontrées, nous nous sommes basés sur un ensemble de caractères généralement qualifiés de spécifiques, parmi lesquels il faut citer : la réaction positive de l'oxydase, l'aptitude à se développer à 42°C et sur des milieux

inhibiteurs (TTC, cétrimide), l'oxydation du gluconate, la présence d'arginine-dihydrolase, l'activité acylamidase et la réduction des nitrates jusqu'au stade de l'azote gazeux.

En plus de ces propriétés, ces 38 souches présentent toutes les caractères positifs suivants : la mobilité à l'aide d'un, exceptionnellement deux ou trois flagelles polaires ; l'anaérobiose en présence de nitrates comme accepteurs finaux d'électrons ; la croissance abondante sur les milieux ordinaires et sur les géloses de MacConkey et SS, ainsi qu'aux températures de 22°C, 30°C et 37°C ; la production de catalase, l'attaque oxydative rapide du glucose et plus lente (3-6 jours) du mannitol et du glycérol, l'utilisation du citrate et du malonate comme seule source d'énergie et le caractère hémolytique (en 1 - 3 jours) sur gélose au sang humain. Pour toutes les souches les caractères négatifs ont été : la croissance à 4°C, l'hydrolyse de l'esculine, la décarboxylation de la lysine et de l'ornithine, la dégradation du lactose, du maltose et du saccharose, la transformation de la phénylalanine en acide phénylpyruvique, la production d'indole et l'hydrolyse de l'amidon.

Les caractères variables enfin doivent être commentés. La production de pigment fluorescent est fréquente : seules 2 souches n'en produisent pas. Le caractère pyocyanogène a réapparu chez 19 souches sur le milieu A de King et coll. (1954). L'hydrolyse de l'urée est très fréquente, quoique généralement lente, elle fait défaut chez 5 souches. L'activité lipolytique est également répandue : seules 4 souches en sont dépourvues. La gélatine est rapidement hydrolysée par la grande majorité des souches, sauf sept. La production de l'acide sulfhydrique est plus rare et faible : 12 souches en produisent. Il en est de même pour la production de l'ADN-ase : seules 11 souches n'en produisent pas. La croissance de la plupart des souches a été inhibée par le tellurite, mais trois souches se sont abondamment développées sur ce milieu. Enfin un caractère, l'activité lécithinasique, reste douteux : le précipité caractéristique fait défaut bien que les colonies s'entourent d'une zone transparente. Nous avons tenté de grouper ces souches en fonction de leurs caractères variables ; mais il ne nous semble pas que les subdivisions obtenues ne paraissent pas correspondre à des biotypes bien définis. En effet, ces caractères sont, soit variables pour une même souche (chromogénèse), soit variables en fonction du temps d'incubation (uréase, gélatinase, lipase, H₂S). Aussi, Pseudomonas aeruginosa peut-elle être considérée comme espèce très homogène en dépit des quelques caractères variables que nous avons observés, en dépit aussi de la variation morphologique des colonies.

Un ensemble considérable de propriétés positives caractérise Pseudomonas aeruginosa. Nous les avons énumérées plus haut. Parmi celles-ci seul le pouvoir pyocyanogène est absolument spécifique. Malheureusement, s'il ne caractérise pas toutes les souches, il vaut néanmoins la peine d'être recherché sur des milieux spéciaux. D'autres caractères non absolument spécifiques, tels que croissance à 42°C, réduction des nitrates en azote gazeux, respiration-nitrate et activité acylamidase, peuvent être retenus pour identifier les souches achromogènes de Ps. aeruginosa.

PYOCINOTYPIE

L'importance que chacun accorde à Pseudomonas aeruginosa dans les infections hospitalières a suggéré plusieurs méthodes de typisation destinées au dépistage épidémiologique de cette espèce. Les méthodes de sérotypie et de lysotypie (278) ont été largement employées, mais la tendance actuelle est de les remplacer ou de les compléter par la bactériocinotypie, méthode basée sur un caractère plus stable que la sensibilité aux phages et offrant une différenciation plus poussée que la sérotypie.

Les bactériocines sont en fait des antibiotiques d'origine bactérienne ; elles possèdent une structure protéinique complexe et quelquefois particulière ; leur action bactéricide est généralement "intraspécifique" ou "intragénérique". En 1954, Jacob obtient un tel antibiotique d'une souche de Ps. aeruginosa et donne le nom de pyocine à cette substance qu'il distingue de la pyocyanine et des "composés pyo". Par la suite, Hamon (1956) démontre la fréquence élevée de la pyocinogénie. La structure des pyocines reste encore mal élucidée, surtout depuis que Kageyama (1964) a démontré l'existence de "pyocines corpusculaires" ressemblant singulièrement à des constituants phagiques.

Le caractère bactériocinogène a été employé tout d'abord par Fredericq et coll. (1956) pour le typage des souches de E. coli isolées de gastroentérites infantiles. En 1958, Abbott et Shannon proposent d'appliquer leur méthode de colicinotypie à l'étude de l'épidémiologie de Sh. sonnei ; leur technique sert de modèle aux procédés de bactériocinotypie conçus ultérieurement.

Après Holloway (1960) et Papavassiliou (1961) et après avoir déterminé les conditions optimales de la pyocinogénie, Darrell et Wahba (1964) adaptent la technique classique d'Abbott et Shannon à l'étude épidémiologique de Ps. aeruginosa. Dans leur méthode, la souche à tester, productrice, est ensemencée sur un axe de la plaque de gélose ; le lendemain, la bande de culture est chloroformée, puis éliminée ; 12 souches indicatrices sont alors ensemencées en traits parallèles, perpendiculaires à l'emplacement de la productrice. Une autre méthode, proposée par Gillies et Govan (1966), diffère de la précédente par l'emploi de 8 souches indicatrices et d'autres conditions d'incubation. Par la suite, Bergan (1968) modifie la méthode de Darrell et Wahba : la culture indicatrice est non seulement raclée après la stérilisation, mais toute la languette de gélose sous-jacente est enlevée par découpage. Une conception différente fut développée par Osman (1965) ; on ne recherche pas le pouvoir pyocinogène à l'aide de souches sensibles, mais on soumet les souches étudiées à l'action de filtrats de cultures provenant de souches pyocinogènes. Nous avons nous-même contrôlé la pyocinogénie de souches sauvages au moyen d'épreuves croisées de sensibilité et de production ; l'originalité de la technique repose sur le fait que ce sont les souches étudiées qui servent elles-mêmes de souches de référence.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Souches

90 souches de Ps. aeruginosa ont été étudiées ; elles étaient isolées de produits pathologiques provenant de malades hospitalisés à Genève. Leur identification se basait sur les caractères macroscopiques classiques ou sur les tests suivants : mobilité, réaction de l'oxydase, dégradation oxydative du glucose, gélatinase, uréase, dihydrolase de l'arginine, développement à 42°C, croissance en présence de 1 % de chlorure de triphényltétrazolum.

Milieu

Bouillon nutritif usuel pour les cultures liquides. Pour les tests de pyocinogénie : DST-agar (Oxoid) coulé en boîtes de Pétri plastiques de 9 cm de diamètre, l'épaisseur de la gélose étant de 4 mm.

Technique

Notre technique de la "gélose renversée" (182) a été utilisée. Elle a pour principe d'utiliser successivement les deux surfaces disponibles d'une couche de gélose : l'une pour la culture des macrocolonies productrices ; l'autre pour le développement de la nappe de culture indicatrice. Cette façon de procéder permet d'éviter tout contact entre les souches productrices et la culture indicatrice, excluant par là-même toute confusion entre les effets d'antibiose et de bactériophagie. En effet, seules les bactériocines diffusibles peuvent traverser la couche de gélose. L'emploi d'un désinfectant est inutile. Chacune des 90 souches fut éprouvée, et comme productrice et comme sensible, par rapport à toutes les autres. Nous avons procédé comme suit : nous ensemençons 20 - 27 productrices sur une même plaque de façon à obtenir des macrocolonies, opération réalisée à l'aide d'un inoculateur-multiple dérivé de l'applicateur de phages pour la lysotypie, (modèle Lidwell). Après incubation de 24 h. à 37°C, la surface du fond de la couche de gélose est libérée : on décolle le bord de la gélose et fait basculer la couche dans le couvercle. La surface stérile ainsi libérée est ensemencée en nappe par une culture en bouillon de la souche indicatrice, âgée de 4 h. Une nouvelle incubation pendant la nuit permet d'observer la nappe de culture indicatrice découpée de zones circulaires stériles de 3 à 30 mm de diamètre, centrées par une macrocolonie sous-jacente.

RESULTATS

Les spectres d'action et de sensibilité de toutes les souches ont été rassemblés dans un tableau, qu'il n'est pas possible de reproduire ici en raison de ses dimensions : 8 100 données y sont réunies, résultant des épreuves croisées de production et de sensibilité de 90 souches. Nous devons nous contenter de le commenter : 85 d'entre elles (94,4 %) se sont révélées productrices de pyocines diffusibles ; 85 souches également se sont montrées sensibles aux bactériocines produites, sans toutefois que les deux phénomènes soient superposables. En effet, tandis que 80 souches ont été à la fois productrices et sensibles, 5 souches se sont montrées seulement productrices et les 5 restantes uniquement sensibles. Aucune de nos souches n'est donc dépourvue à la fois du caractère pyocinogène et de la sensibilité aux pyocines. Les spectres d'action et de sensibilité observés sont divers sans être excessivement étendus. Le plus large éventail d'activité fut présenté par la souche No 2486, active sur 28 indicatrices différentes ; la gamme de sensibilité la plus étendue fut représentée par la souche No 2041, qui réagit face à 35 productrices différentes. Des souches productrices ou indicatrices universelles ne semblent pas exister dans l'espèce *Ps. aeruginosa*.

Quant aux groupages résultant de ces épreuves croisées, ils se présentent comme suit :

1- le groupage basé sur les gammes de sensibilité a permis de reconnaître 45 types formant autant de groupes : 1 groupe à 8 souches, 1 groupe à 7 souches, 1 groupe à 6 souches, 1 groupe à 5 souches, 1 groupe à 4 souches, 3 groupes à 3 souches, 8 groupes à 2 souches et 30 "groupes" à souche unique, en plus des 5 souches non typables.

2- le groupage basé sur les spectres d'action a permis de créer 42 groupes représentant autant de pyocinogénotypes : 1 groupe à 12 souches, 1 groupe à 8 souches, 1 groupe à 6 souches, 2 groupes à 4 souches, 6 groupes à 2 souches et 27 groupes à souche unique, en plus des 5 souches non typables.

3 - En considérant à la fois les deux critères, sensibilité et productivité, on obtient une répartition fort différente des précédentes : 2 groupes à 3 souches, 6 groupes à 2 souches et 72 "groupes" à souche unique. Le nombre de "types combinés" devient ainsi élevé, ici 80, et la proportion des souches typables atteint 100 %.

DISCUSSION

Parmi les méthodes de bactériocinotypie (bacteriocin typing), deux conceptions fondamentalement différentes s'affrontent. La première, la plus répandue, est une bactériocinogénotypie (bacteriocin-production typing) dans laquelle on cherche à mettre en évidence le pouvoir bactériocinogène de la souche à tester. Son spectre d'action, déterminé à l'aide d'un nombre variable de souches révélatrices, correspond à son bactériocinogénotype. Le procédé inverse, qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche face à l'action soit de souches productrices, soit de préparations de bactériocines, n'est pas défini par un terme adéquat. On pourrait lui attribuer le nom de "bactériosenstypie" (bacteriocin-sensitivity typing) par analogie au terme de bactériocinogénotypie. La méthode de typisation, qui révèle à la fois les types de sensibilité et les types de production, est une bactériocinotypie combinée. Enfin, nous comprenons sous le terme de "bactériocinotypie croisée", la méthode exposée en détail dans le présent travail, méthode basée sur des épreuves croisées de production et de sensibilité effectuées à l'aide des souches à typer elles-mêmes.

L'étendue des spectres d'activité et de sensibilité aussi bien que le grand nombre de groupes observés par la typisation croisée, démontrent nettement le caractère arbitraire et la signification épidémiologique limitée des bactériocinotypies qui font appel à un nombre restreint de souches de référence. Bien que le nombre de souches utilisées dans les méthodes existantes laisse entrevoir théoriquement un nombre élevé de groupes, pratiquement trop peu de types en résultent pour être épidémiologiquement significatifs. En d'autres termes, le groupage que permettent ces systèmes ne peut nullement prouver l'origine commune des souches ; il peut tout au plus la faire suspecter. Pour tirer des conclusions épidémiologiquement valables, il est préférable de recourir à une méthode de typisation, telle la bactériocinotypie combinée ou la bactériocinotypie croisée, qui permettent de subdiviser l'espèce en très nombreux biotypes. L'hospitalisation est par définition un phénomène topographiquement limité. Il n'est guère nécessaire, pour satisfaire aux besoins de l'enquête épidémiologique, de recourir à des souches internationales de référence ; il est certainement plus rationnel d'utiliser des souches locales sélectionnées. Enfin, à défaut de celles-ci, les épreuves croisées offrent des conditions optimales pour le groupage. Le procédé convient très bien à la typisation de petites séries, par exemple pour des lots d'une cinquantaine des souches. Si les souches à typer sont plus nombreuses, on peut alors envisager la sélection des souches productrices et révélatrices les plus intéressantes. L'utilisation de souches de collation n'a d'intérêt que pour comparer les résultats de typisations successives ou de typisations conduites en lieux différents.

CONCLUSIONS

Au lieu de proposer de nouvelles souches de référence, nous recommandons une nouvelle méthode de travail. Il s'agit d'une bactériocinotypie croisée, où les souches à l'étude sont éprouvées et comme productrices et comme sensibles, ce qui permet d'établir des spectres d'action et de sensibilité étendus et de reconnaître d'emblée l'incidence de souches particulières, épidémiologiquement significatives.

* * *

Pseudomonas aureofaciens

Cette espèce est apparentée à Pseudomonas aeruginosa (Lysenko, 1960). Elle ne produit ni fluorescéine, ni pyocyanine, mais élabore un pigment jaune ou orange de nature phénazinique. Liu (1960) la rapproche plutôt de Pseudomonas fluorescens en raison de caractères antigéniques similaires. Les propriétés culturales et biochimiques parlent aussi en faveur de cette dernière éventualité (Stanier et al., 1966).

La production d'un pigment phénazinique particulier, la production d'une lécithinase et l'inhibition de la croissance à 42°C distinguent cette espèce de Pseudomonas aeruginosa, tandis que l'absence de fluorescéine et le pouvoir dénitrificateur variable pourraient la distinguer éventuellement de Pseudomonas fluorescens. Nous n'avons trouvé aucune souche susceptible d'appartenir à cette espèce.

Pseudomonas cepacia

La taxonomie de cette espèce a donné lieu à une grande confusion de nomenclature (EO-1, Ps. kingii, Ps. multivorans) car elle a été isolée et caractérisée par plusieurs auteurs en des temps et lieux différents. La première description est celle de Burkholder (1950), qui donne le nom de Pseudomonas cepacia à l'espèce phytopathogène qu'il a isolés d'une maladie des oignons. E. King (1964) isole de produits pathologiques humains des souches de pseudomonades qui sont groupées sous la désignation de EO-1 (eugonic oxydizers groupe No 1). Pour ces souches, Jonsson (1970) a proposé le nom de Pseudomonas kinggi, mais Taplin et coll. (1971) ont reconnu qu'il s'agissait de Pseudomonas cepacia. Par ailleurs, Stanier et coll. (1966) ont proposé le nom de Pseudomonas multivorans pour désigner les souches de pseudomonades non-fluorescentes isolées par Morris et Robberts (1959) de milieux naturels, mais Ballard et coll. (1970) ont démontré que cette espèce correspondait à Pseudomonas cepacia de Burkholder.

Pseudomonas cepacia a été isolée d'un grand nombre de produits pathologiques humains (179). On la signale plus particulièrement dans les infections urinaires postopératoires (240) ou après cathérisation (143), dans des infections de plaies (13), lésions orthopédiques (329), bactériémies consécutives à des infusions veineuses et septicémies postopératoires (271). Cette espèce doit probablement son pouvoir pathogène occasionnel à son extraordinaire versatilité nutritionnelle (320). Elle se développe n'importe où et à partir de n'importe quel substrat, elle a été même isolée de solutions désinfectantes : chlorhexidine à 0,05 % et

cétrimide à 0,5 % (13). Les caractères distinctifs de Pseudomonas cepacia peuvent se résumer ainsi : ciliature lophotriche, inclusions sudanophiles, activités lécithinase, lipolytique et gélatinolytique, absence d'arginine dihydrolase, mais production d'une lysine-décarboxylase, action glucidolytique (glucose, lactose, maltose et mannitol régulièrement attaqués), utilisation du citrate et du malonate, inaptitude à la dénitrification.

Les souches que nous avons pu identifier à Pseudomonas cepacia sont au nombre de 16. Elles possèdent toutes les attributs caractéristiques de cette espèce : pouvoir glucidolytique prononcé (glucose, lactose, maltose, rapidement oxydés), production de lysine-décarboxylase, de lécithinase, de lipase, utilisation du citrate et du malonate. Les caractères négatifs sont également typiques : croissance à 42°C, respiration-nitrate, réduction des nitrates, arginine-dihydrolase. D'autres caractères se sont montrés variables tels que croissance sur milieu TTC et production d'uréase.

Trois caractères méritent un commentaire. La réaction d'oxydation du gluconate apparaît très lentement, mais peut être toutefois considérée positive. La mise en évidence de l'arginine-dihydrolase donne une réaction douteuse ; au lieu du précipité brun-orange, on obtient un précipité jaunâtre. L'activité gélatinolytique est positive pour tous les auteurs ; nous la trouvons faible et lente.

Enfin, nous pouvons ajouter deux caractères non-mentionnés dans la bibliographie : la croissance sur milieu au cétrimide et la désamination de l'acétamide. Ce dernier caractère nous paraît particulièrement important.

Pseudomonas chlororaphis

Cette espèce fluorescente se rencontre fréquemment sur des matières organiques en décomposition. Décrite d'abord par Gignard et Sauvageau (1894) sous le nom de Bacillus chlororaphis, elle est insérée dès 1930, dans le genre Pseudomonas (19). Elle peut être facilement confondue avec Pseudomonas aeruginosa dont elle est très proche (223), quoique Stanier et coll. (1966) la considèrent plutôt comme une variété de Pseudomonas fluorescens.

Les caractères principaux de Pseudomonas chlororaphis sont les suivants : production d'un pigment phénazinique cristallisable, la chlororaphine (22), ciliature lophotriche, réduction des nitrates en nitrites, production d'une lécithinase, oxydation du gluconate et inaptitude au développement à 42°C (146). Nous n'avons rencontré aucune souche correspondant à cette définition.

Pseudomonas fluorescens

L'espèce classique de pseudomonade fluorescente a été décrite par Flügge (1886) sous la désignation trinomiale de Pseudomonas fluorescens liquefaciens qui exprime les caractères principaux de ce germe. La nomenclature correcte et définitive de Pseudomonas fluorescens a été donnée par Migula (1895) et n'a guère été contestée.

Cette espèce est universellement distribuée dans la nature. Agent typique des putréfactions, elle joue aussi un rôle phytopathogène important. Elle est isolée de produits pathologiques d'origine animale et humaine, mais son pouvoir pathogène n'a jamais été incontestablement établi. Relevons à ce propos que d'une façon générale, les souches ne se développent pas à 37°C, ce qui ne les empêche pas de se multiplier sur la peau de l'homme.

L'individualité spécifique de Pseudomonas fluorescens est sérieusement mise en doute par Jessen (1965) qui, dans une étude portant sur 904 souches, compare des pseudomonades fluorescentes de provenances les plus diverses. Il établit 82 biotypes biochimiques et nutritionnels repartis en 6 groupes ; le groupe I, réunissant les souches de Pseudomonas aeruginosa, s'individualise nettement. La situation est différente pour d'autres pseudomonades fluorescentes, qui se repartissent dans les groupes II-VI et auxquelles Jessen n'accorde pas le rang d'espèce, mais les désigne par des numéros de biotypes. Les souches isolées de sources humaines se concentrent étonnamment dans deux biotypes distincts, le 11 et le 63, qui pourraient correspondre à deux espèces de pseudomonades fluorescentes considérées comme classiques : Pseudomonas putida pour le biotype 11 et Pseudomonas fluorescens pour le biotype 63.

Stanier et coll. (1966) admettent l'individualité de l'espèce Pseudomonas fluorescens, mais ils reconnaissent néanmoins 7 biotypes (A-G) sur la base des spectres nutritionnels, soutenus par d'autres caractères tels que la transformation du saccharose en lévane, le pouvoir dénitrificateur et la production de pigments phénaziniques spéciaux. Ce dernier caractère permet de distinguer dans les biotypes D, E et F des espèces telles que Pseudomonas chlororaphis, Pseudomonas aureofaciens, et Pseudomonas lemmonieri, qui sont considérées par d'autres auteurs comme variétés de Pseudomonas aeruginosa (223). Les biotypes A et B correspondraient à l'espèce classique de Pseudomonas fluorescens.

Pour identifier la présence éventuelle de Pseudomonas fluorescens en bactériologie humaine, on retiendra les caractères suivants : production de fluorecène (mais pas de pigment phénazinique), production de lévane, croissance à 4°C, mais pas à 42°C, production de lécithinase et d'uréase, absence de pouvoir dénitrificateur, enfin pouvoir gélatinolytique.

Quoique mentionnée dans tous les manuels de bactériologie médicale, Pseudomonas fluorescens n'a été qu'exceptionnellement isolée de produits pathologiques (120). Nous n'avons trouvé aucune souche, ce qui n'a rien d'étonnant. Pseudomonas fluorescens est plutôt psychrophile, elle ne se développe que rarement et faiblement à la température de 37°C. De tels germes n'ont vraisemblablement pas de pouvoir compétitif suffisant à la température du corps humain et leur isolement est rendu aléatoire à cause des conditions d'incubation réclamées par les germes mésophiles.

Pseudomonas ovalis

Décrite sous le nom de Bacillus fluorescens ovalis par Ravenal (1896), Chester (1901) la désigne par le nom de Pseudomonas ovalis. Cette espèce fluorescente est voisine de Pseudomonas putida dont les caractères nutritionnels sont identiques (320). Dans la pratique, on différencie les deux espèces par le test de l'oxydation du gluconate qui est positif pour Pseudomonas putida et négatif pour Pseudomonas ovalis (223).

Les 7 souches de Ps. ovalis que nous avons reconnues se développent sur les milieux sélectifs (SS, TTC, Cétrimide), sont glucidolytiques, utilisent le citrate et possèdent une arginine-dihydrolase. Trois souches sont fluorescentes, quatre sont uréolytiques et trois utilisent le malonate. Les autres caractères sont négatifs : oxydation du gluconate, respiration-nitrate, production de gélatinase, lécithinase, lipase et croissance à 42°C permettent de distinguer Pseudomonas ovalis des autres pseudomonades fluorescentes.

Pseudomonas pseudomallei

Pseudomonas pseudomallei vit en saprophyte dans le sol des régions tropicales, surtout dans le sud-est asiatique. C'est l'agent étiologique de la mélioïdose, maladie de divers mammifères y compris l'homme. Découvert et décrit par Withmore (1913), il fut successivement placé, tout comme le bacille de la morve, dans les genres Pfeifferella, Malleomyces et Loefflerella. Ses affinités biologiques (200), ses caractères morphologiques et notamment la flagellation céphalotriche (33), ses propriétés biochimiques et culturales (344) ont valu au bacille de Whitmore d'être classé dans le genre Pseudomonas (145). Prévot place cette espèce dans le nouveau genre Whitmorella, tandis que Wilson et Miles (1964) la maintiennent dans le genre Loefflerella. La controverse n'est pas close.

Pseudomonas pseudomallei offre effectivement de nombreux caractères communs aux bacilles pyocyaniques achromogènes : mobilité, réactions de l'oxydase et de la catalase positives, croissance à 42°C, activité gélatinolytique, fonctionnement du système arginine-dihydrolase, anaérobiose facultative en présence de nitrates, utilisation du citrate, attaque du glucose, du mannitol et du glycérol, réduction des nitrates et des nitrites en azote gazeux. Il s'en différencie nettement par d'autres caractères : ciliature lophotriche, inclusions sudanophiles, inhibition de la croissance sur les milieux SS, TTC et cétrimide, production d'une lécithinase, attaque du lactose, incapacité d'oxyder le gluconate et d'utiliser le malonate. Dans nos régions ce germe est inexistant.

Pseudomonas putida

Décrite à l'origine sous des désignations trinominales telles que Bacillus fluorescens putidus Flüggé (1886) et Bacillus fluorescens nonliquefaciens Eisenberg (1891), cette espèce est placée dans le genre Pseudomonas par Migula (1895) sous le nom de Pseudomonas putida.

Cette pseudomonade est largement distribuée dans la nature. Elle peut se rencontrer dans les produits pathologiques d'origine humaine comme agent responsable d'infections diverses (116, 273, 275, 289, 327), ou dans des produits alimentaires avariés (86).

Les caractères principaux de Pseudomonas putida sont : ciliature lophotriche, fluorescence, croissance sur milieux sélectifs (TCC, Cétrimide), inhibition de la croissance à 42°C, lécithinase et gélatinase négatives, arginine déhydrolase positive, oxydation du glucose et du gluconate, absence de nitrate réductase.

Les souches que nous avons identifiées à Pseudomonas putida forment un groupe numériquement important : nous en avons reconnu 19 souches parmi les pseudomonades fluorescentes. Elles peuvent être facilement confondues dans la pratique avec des souches apyocyanogènes de Pseudomonas aeruginosa, auxquelles elles ressemblent par de nombreux caractères : production du pigment fluorescent, la croissance sur milieux sélectifs (SS, TTC, Cétrimide), présence d'arginine-dihydrolase, oxydation du glucose et du gluconate, utilisation du citrate et du malonate, etc. Pourtant, d'autres caractères tranchent nettement avec ceux du bacille pyocyanique : absence d'hémolyse, incapacité de Pseudomonas putida de se développer soit à 42°C, soit en anaérobiose en présence de nitrates, absence de gélatinase, de nitrates réductases et acylamidase. Ce dernier caractère constitue le test le plus rapide pour distinguer les deux espèces. Quant à la

distinction entre Ps. putida et d'autres pseudomonades fluorescentes (Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas ovalis), elle se base sur l'absence du pouvoir gélatinolytique et de l'activité lécithinasique, ainsi que l'oxydation du gluconate. Les 19 souches de Pseudomonas putida présentent une grande uniformité de caractère. Elles répondent toutes aux propriétés distinctives mentionnées jusqu'ici. Les quelques caractères variables ne permettent pas une subdivision de ce groupe. Six souches ne sont pas fluorescentes, quatre n'utilisent pas le malonate, six ne sont pas uréolytiques et une seule souche n'utilise pas le citrate comme seule source de carbone.

Pseudomonas stutzeri

Cette espèce de pseudomonade dénitrifiante, non-fluorescente et non-protéolytique a été décrite sous le nom de Bacillus denitrificans par Burri et Stutzer en 1895, puis sous le nom de Bacillus stutzeri, peu après par Lehmann et Neumann (1896). Qualifiée tour à tour de Bacillus, d'Achromobacter et de Vibrio, elle est incorporée par Kluver (1942) dans le genre Pseudomonas sous le nom de Pseudomonas stutzeri. L'opinion de Kluver est partagée par de nombreux auteurs (187, 223, 251, 320, 344). Mandel (1966) a déterminé le quotient guanine-cytosine de l'ADN des souches de Stanier et coll. (1966) il a mis en évidence une distribution bimodale marquée, et propose la création d'une espèce nouvelle sous le nom de Pseudomonas stanieri à côté de Pseudomonas stutzeri. Enfin, Palleroni et coll. (1970) présentent également une nouvelle espèce : Pseudomonas mendocina, qu'ils rattachent au "groupe stutzeri".

Cette espèce, ubiquitaire, est aussi commensale du corps humain ; elle peut être isolée de produits pathologiques. Parmi les 84 souches étudiées par King (1964), 14 provenaient d'hémocultures, 10 de LCR, 12 d'expectorations, 5 d'urines et von Graevenitz fait en 1965 la description de cinq cas cliniques. Pseudomonas stutzeri est vraisemblablement responsable d'infections graves chez des patients dont les mécanismes de défense sont amoindris. Nous en avons isolé 2 souches.

XANTHOMONAS

Ce genre a été créé par Dowson (1939), pour grouper les pseudomonades phytopathogènes qui se caractérisent principalement par la production d'un pigment caroténoïde particulier (32). A part ce caractère qui n'est d'ailleurs pas spécifique, les Xanthomonas ont fait l'objet de descriptions confuses. On les caractérise actuellement comme suit : bâtonnets gram-négatifs nonsporulés, mobiles par ciliature monotriche, aérobies, offrant des colonies jaune pâle, jaune foncé à pigment non hydrosoluble ; inhibition de la croissance à 42°C et sur milieu de MacConkey, catalase et oxydase positives, monosaccharides et disaccharides dégradés par métabolisme oxydatif, esculine et amidon hydrolysés, activités lipolytique, lécithinasique et gélatinolytique, absence d'uréase et de décarboxylase, indole négatif, production d'acide sulfhydrique, gluconate non oxydé, malonate non utilisé et nitrates non réduits (84, 85, 147, 151, 275).

Les espèces de Xanthomonas sont largement connues en tant que phytopathogènes, mais elles sont rarement signalées en bactériologie humaine. Pickett et Pedersen (1970) présentent 8 souches isolées de spécimens cliniques. Brisou et Denis (1969) proposent l'adjonction de Flavobacterium meningosepticum au genre Xanthomonas, mais leur proposition n'a pas rencontré beaucoup d'échos.

Nous n'avons rencontré aucune souche pouvant être qualifiée de Xanthomonas.

CONCLUSIONS

Nous avons passé en revue et confronté les opinions au sujet des nombreuses espèces de Pseudomonadaceae rencontrées en bactériologie clinique et, parallèlement, nous avons discuté individuellement les caractères et l'incidence des espèces que nous avons pu isoler dans le cadre de l'activité normale de notre laboratoire de diagnostic de routine.

En comparant notre expérience personnelle aux données de la bibliographie, nous constatons que de nombreuses Pseudomonadaceae parfois abondamment signalées dans la littérature spécialisée, n'ont pas été retrouvées par nos soins. Prétendre qu'elles n'existent pas dans notre région serait trop osé ; nous devons toutefois en conclure que ces espèces sont rares, pour le moment en tout cas.

Nous nous sommes proposé de réexaminer un domaine particulier, encore passablement controversé de la bactériologie médicale ; nous avons aussi pour but de réunir les moyens de travail destinés à faciliter le diagnostic bactériologique dans la routine du laboratoire. C'est ainsi que nous avons été amené à adopter quatre caractères taxonomiques majeurs d'observation et d'utilisation simples : le caractère chromogène, l'observation de la mobilité, la réaction de l'oxydase et la dégradation oxydative du glucose. Sur cette base, en nous inspirant d'ailleurs de Prévot (1961) nous avons reconnu 3 tribus et 11 genres. Parmi ces derniers, certains ont reçu une nouvelle définition qui ne rencontrera peut-être pas l'approbation de tous les chercheurs, mais qui a l'avantage de dissiper beaucoup d'équivoques. Les caractères distinctifs de ces genres sont présentés dans le Tableau XXV.

Une fois la reconnaissance du genre établi à l'aide des quatre critères taxonomiques majeurs 4 à 6 tests supplémentaires suffisent pour effectuer le diagnostic d'espèce. Ces tests sont choisis, en fonction des genres, parmi la douzaine de caractères qui nous ont paru les plus significatifs :

- réduction des nitrates en nitrites, voire en azote gazeux ;
- production d'une protéinase qui hydrolyse la gélatine ;
- production de l'indole ;
- production de l'hydrogène sulfuré ;
- oxydation du gluconate ;
- production de l'arginine déshydrolase ;
- croissance sur la gélose de MacConkey ;
- production de l'uréase ;
- transformation de la phénylalanine en acide phénylpyruvique ;
- production de l'amylase ;
- utilisation du citrate comme seule source de carbone ;
- l'oxydation du xylose.

Ces tests sont d'usage courant dans les laboratoires de diagnostic de routine. Les tableaux XVI, XVII et XVIII donnent la clé d'identification que nous proposons.

Tableau XV. Famille Pseudomonadaceae

	PIGMENTS	MOBILITE	OXYDASE	GLUCOSE
Tribu ACHROMOBACTERAE				
Genre <i>Achromobacter</i>	-	-	-	-
Genre <i>Acinetobacter</i>	-	-	-	+
Genre <i>Alcaligenes</i>	-	+	+	-
Genre <i>Moraxella</i>	-	-	+	-
Tribu CHROMOBACTERAE				
Genre <i>Chromobacterium</i>	+	+	-	+
Genre <i>Erpedobacter</i>	+	-	-	+
Genre <i>Flavobacterium</i>	+	-	+	-
Genre <i>Xanthomonas</i>	+	+	+	+
Tribu PSEUDOMONADAE				
Genre <i>Malleomyces</i>	-	-	+	+
Genre <i>Maltophilia</i>	-	+	-	-
Genre <i>Pseudomonas</i>	x	+	+	+

Tableau XVI. Tribu Achromobacterae

	MOBILITE	OXYDASE	GLUCOSE	NITRITE	AZOTE	PROTEOLYSE	H ₂ S	
<i>Achromobacter lwoffii</i>	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Acinetobacter anitratus</i>	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Acinetobacter</i> sp.	-	-	+	+	-	-	-	
<i>Alcaligenes faecalis</i>	+	+	-	+	-	-	-	
<i>Alc. denitrificans</i>	+	+	-	+	+	-	-	
<i>Alc. putrefaciens</i>	+	+	-	+	-	+	-	
<i>Alc. odorans</i>	+	+	-	+	-	-	+	
<i>Alc. xylosoxydans</i>	+	+	-	+	-	-	-	xylose +
<i>Alc. terrigenus</i>	+	+	-	+	+	-	+	
<i>Moraxella lacunata</i>	-	+	-	+	-	-	-	sérophilie
<i>Moraxella duplex</i>	-	+	-	-	-	+	-	
<i>Moraxella bovis</i>	-	+	-	-	-	-	-	catalase +
<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	-	+	-	-	-	-	-	APP +
<i>Moraxella kingii</i>	-	+	-	-	-	-	-	catalase -
<i>Moraxella amylolytica</i>	-	+	-	-	-	-	-	amylase +
<i>Moraxella urethralis</i>	-	+	-	-	-	-	-	citrate +

Tableau XVII. Tribu Chromobacterae

	MOBILITE	OXYDASE	GLUCOSE	NITRITES	GELATINE	INDOLE	H ₂ S	Mac CONKEY
<i>Chromobacterium lividum</i>	+	-	+	-	-	-	-	+
<i>Chromobacterium typhiflavum</i>	+	-	+	+	-	-	-	+
<i>Empedobacter aquatile</i>	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	-	+	-	-	+	+	-	-
<i>Flavobacterium</i> sp.	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Xanthomonas</i> sp.	+	+	+	-	+	-	+	-

Tableau XVIII. Tribu Pseudomonadae

	MOBILITE	OXYDASE	GLUCOSE	FLUORESCENCE	NITRITES	GELATINE	GLUCONATE	ARGININE
<i>Malleomyces mallei</i>	-	+	+	-	+	+	-	+
<i>Maltophilia</i> sp.	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas cepacia</i>	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	+	+	-	+	-	+
<i>Pseudomonas mendocina</i>	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>Pseudomonas ovalis</i>	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	+	+	+	-	+	-	-	-

R E S U M E

En bactériologie médicale le diagnostic des bâtonnets gram-négatifs non-fermentatifs est souvent difficile : les tests de caractérisation sont inadéquats, les schémas d'identification sont contradictoires, la taxonomie est confuse. Ces germes semblent pourtant avoir un grand intérêt en clinique où la pression sélective des chimiothérapeutiques joue en leur faveur. On les isole de produits pathologiques les plus divers ce qui amène le clinicien à demander au bactériologiste un diagnostic sans équivoque. Cette nécessité nous a incité à entreprendre la présente étude dans le but de faciliter la tâche du bactériologiste face aux problèmes que pose l'identification des bâtonnets gram-négatifs d'intérêt médical de la famille des Pseudomonadaceae.

Une étude bibliographique approfondie a été indispensable. Nous avons dû remonter jusqu'à la fin du siècle dernier pour élucider l'histoire de certaines espèces. Nous avons pu ainsi mettre en lumière nombre de contradictions et de confusions taxonomiques.

Parallèlement, nous avons entrepris l'étude de 305 souches sauvages isolées de produits pathologiques d'origine hospitalière. Nous les avons caractérisées à l'aide d'une quarantaine de tests physiologiques ou biochimiques et avons tenté d'établir des groupes naturels au niveau générique. Nous y sommes parvenus grâce à quatre caractères principaux : pouvoir chromogène, mobilité, réaction de l'oxydase et comportement vis-à-vis du glucose. Des tests secondaires nous ont permis de définir les espèces.

En synthèse de l'étude bibliographique et de notre expérimentation personnelle nous avons établi des schémas d'identification pour les trois tribus de la famille des Pseudomonadaceae. Enfin, nous avons suggéré des solutions taxonomiques originales pour les espèces appartenant aux genres Achromobacter, Acinetobacter, Alcaligenes et Pseudomonas.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABBOTT, J.D. and SHANNON, R. (1958). A method for typing Shigella sonnei, using colicine production as a marker. J. clin. Path. 11, 71-77.
2. AIKEN, M.A., WARD, M.K. and KING, E.O. (1956). A study of a group of gram-negative bacteria resembling the tribe Mimeae (DeBord). Public Health Lab., 14, 126-136.
3. ALAMI, S.Y. and RILEY, H.D. Jr (1966). Infections caused by Mimeae with special reference to Mima polymorpha. A review. Am. J. Med. Sci. 252, 537-544.
4. ARAI, T., ENOMOTO, S. and KUWAHARA, S. (1970). Determination of Pseudomonas aeruginosa by biochemical test methods I. An improved method for gluconate oxidation test. Japan J. Microbiol. 14, 49-56.
5. ARAI, T., OTAKE, M., ENOMOTO, S., GOTO, S. and KUWAHARA, S. (1970). Determination of Pseudomonas aeruginosa by biochemical test methods. II. Acylamidase test, a modified biochemical test for the identification of Pseudomonas aeruginosa. Jap. J. Microbiol. 14, 279-284.
6. ARAI, T., ENOMOTO, S. and al. (1970). Determination of Pseudomonas aeruginosa by biochemical test methods. III. Utilization of Tween 80 by Pseudomonas aeruginosa. Jap. J. Microbiol., 14, 285-290.
7. ASHLEY, D.J.B. and KWANTES, W. (1961). Four cases of human infection with Achromobacter anitratus. J. Clin. Path., 14, 670-673.
8. AZUMA, Y. and WITTER, L.D. (1970). Pyocyanine degradation by apyocyanogenic stains of Pseudomonas aeruginosa. Canad. J. Microbiol., 16, 395-398.
9. AUDUREAU, A. (1940). Etude du genre Moraxella. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 64, 126-166.
10. AXENFELD, T. (1897). Ueber die chronische Diplobacillenconjunctivitis. Zbl. Bakt. I orig. 21, 1-9.
11. BALLARD, R.W., DOUDOROFF, M., STANIER, R.Y. and MANDEL M. (1968). Taxonomy of the aerobic pseudomonads : Pseudomonas diminuta and P. vesiculare. J. Gen. Microbiol. 53, 349-361.
12. BALLARD, R.W., PALLERONI, N.J., DOUDOROFF, M., STANIER, R.Y. and MANDEL, M. (1970). Taxonomy of the aerobic Pseudomonads : P. cepacia, P. maginata, P. alliicola, and P. caryophylli. J. Gen. Microbiol. 60, 199-214.
13. BASSETT, D.C.J., STOKES, K.J. and THOMAS W.R.G. (1970). Wound infection with Pseudomonas multivorans. A waterborne contaminant of disinfectant solutions. Lancet i, 1188-1191.
14. BAUMANN, P. (1968). Isolation of Acinetobacter from soil and water. J. Bacteriol. 96, 39-42.
15. BAUMANN, P., DOUDOROFF, M. and STANIER, R.Y. (1968). Study of the Moraxella group. I. Genus Moraxella and the Neisseria catarrhalis group. J. Bacteriol. 95, 58-73.
16. BAUMANN, P., DOUDOROFF, M. and STANIER, R.Y. (1968). A study of the Moraxella group. II. Oxidase-negative species (Genus Acinetobacter). J. Bacteriol. 95, 1520-1541.
17. BERGAN, T. (1968). Typing of Pseudomonas aeruginosa by pyocine production. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 72, 401-411.
18. BERGEY'S MANUAL of determinative bacteriology. 1 st ed., 1923.
19. BERGEY'S MANUAL of determinative Bacteriology. 3 rd ed., 1930.

20. BIJSTERFELD van, O.P. and WINKLER, K.C. (1970). Selective medium Moraxella nonliquefaciens. Appl. Microbiol. 19, 278-280.
21. BIJSTERFELD van, O.P. (1970). New Moraxella Strain isolated from angular conjonctivitis. Appl. Microbiol. 20, 405-408.
22. BIRKOFER, L. (1967). Chlororaphin, ein weiteres farbiges Stoffwechselprodukt des Bacillus pyocyaneus. Chem. Ber. 80, 212-214.
23. BLANC, J. (1923). Transformation des bacilles pyocyaniques en bacilles sans pigment. Essai d'interprétation. C.R. Soc. Biol. (Paris) 88, 52-53.
24. BOTTONE, E. and ALLERHAND, J. (1968). Association of mucoid encapsulated Moraxella duplex var. nonliquefaciens with chronic bronchitis. Appl. Microbiol. 16, 315-319.
25. BOVRE, K. (1963). Affinities between Moraxella spp. and a strain of Neisseria catarrhalis as expressed by transformation. Acta path. microbiol. scand. 58, 528-529.
26. BOVRE, K. (1965). Studies on transformation in Moraxella and organisms assumed to be related Moraxella. 5. Streptomycin resistance transformation between serum-liquefying, nonhaemolytic Moraxellae, Moraxella bovis, and Moraxella non liquefaciens. Acta path. microbiol. scand. 65, 435-449.
27. BOVRE, K. (1965). Studies on transformation in Moraxella and organisms assumed to be related to Moraxella. 6. A distinct group of Moraxella non-liquefaciens-like organisms (the "19116/51" group). Acta path. microbiol. scand. 65, 641-652.
28. BOVRE, K. (1965). Studies on transformation in Moraxella and organisms assumed to be related to Moraxella. 4. Streptomycin resistance transformation between asaccharolytic Neisseria strains. Acta path. microbiol. scand. 64, 229-242.
29. BOVRE, K. (1967). Transformation and DNA base composition in taxonomy with special reference to recent studies in Moraxella and Neisseria. Acta path. microbiol. scand. 69, 123-144.
30. BOVRE, K. and HENRIKSEN, S.D. (1967 a). A new Moraxella species, Moraxella osloensis, and a revised description of Moraxella nonliquefaciens. Intern. J. system. Bact. 17, 127-130.
31. BOVRE, K. and HENRIKSEN D. (1967 b). A revised description of Moraxella polymorpha Flamm 1957, with a proposal of a new name, Moraxella phenylpyruvica for this species. Intern. J. Syst. Bacteriol. 17, 343-360.
32. BREED, R.S., MURRAY, E.G.D. and SMITH N.R. (1957). BERGEY'S manual of determinative bacteriology. 7 th ed Baltimore, Md. : William and Wilkins Compagny.
33. BRINDLE, C.S. and COWAN, S.T. (1951). Flagellation and taxonomy of Whitmore's bacillus. J. Path. Bact. 63, 571-574.
34. BRISOU, J. (1953). Essai sur la systématique du genre Achromobacter. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 84, 812-814.
35. BRISOU, J. (1957). Contribution à l'étude des Pseudomonadaceae. Précisions taxonomiques sur le genre Acinetobacter. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 92, 134-137.
36. BRISOU, J. (1957 b). Contribution à l'étude de la systématique des Pseudomonadaceae. Précisions taxonomiques sur le genre Acinetobacter. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 93, 397-401.
37. BRISOU, J. (1960). Achromobacter, Acinetobacter, Moraxella. Les raisons d'un choix taxonomique. Bull Soc. Path. Exot. 54, 71-77.
38. BRISOU, J. et DENIS, F. (1969). L'identification des bacilles gram-négatifs à pigment jaune non diffusible. Commentaires de microbiologie du laboratoire Le Dantec, No 8, Poitiers.
39. BRISOU, J. et MORICHAU-BEAUCHANT, J. (1952). Identité biochimique entre certaines souches de B. anitratum et Moraxella lwoffii. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 82, 640-643.

40. BRISOU, J., MORICHAU-BEAUCHANT, J. et GIMENEZ, J. (1953). Mimeae et formes courtes des bactéries. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 84, 814-816.
41. BRISOU, J., et PREVOT, A.R. (1954). Etudes de systématique bactérienne X. Révision des espèces réunies dans le genre Achromobacter. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 86, 722-728.
42. BRODIE, J. and HENDERSON, A. (1964). Further observation on Mima polymorpha and Achromobacter (Bacterium) anitratum. J. clin. Path. 17, 513-516.
43. BRODY, J.B., MOORE, H. and KING, E.O. (1958). Meningitis caused by an unclassified Gram-negative bacterium in newborn infants. A.M.A.J. Dis. Child. 96, 1-5.
44. BROOKE, M.S. (1951). The occurrence of B5W (B. anitratum) strains in Denmark. Acta. Path. Microbiol. Scand. 28, 338-342.
45. BROWN, V.I. and LOWBURY, J.L. (1965). Use of an improved cetrimide agar medium and other culture methods for Pseudomonas aeruginosa. J. Clin. Pathol. 18, 752-756.
46. BRUMPT, E. (1910). Précis de Parasitologie, 1st ed, Paris : Masson.
47. BUCHANAN, R.E. (1918). Studies in the nomenclature and classification of the bacteria. V. Subgroups and genera of the Bacteriaceae. J. Bact. 3, 27.
48. BUHLMANN, X., VISCHER, W.A. and BRUHIN, H. (1961). Identification of apyocyanogenic strains of Pseudomonas aeruginosa. J. Bact. 82, 787-788.
49. BURKHOLDER, W.H. (1950). Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. Phytopathology 40, 115-119.
50. BURNS, R.P. and FLOREY, M.J. (1963). Conjunctivitis caused by Mimeae. Amer. J. Ophthal. 56, 886-891.
51. BURRI, R. und STUTZER, A. (1895). Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverluste, Zbl. Bact. Abt II, 1, 257, 350, 392, 422.
52. BURTON, M.O., CAMPBELL, J.J.R. and EAGLES, B.A. (1948). The mineral requirements for pyocyanin production. Can. J. Res (C), 26, 15-17.
53. BUSING, K.J., DOLL, W. und FREYTAG, K. (1953). Die Bakterienflora des medizinischen Blutegel. Arch. Mikrobiol. 19, 52-58.
55. BUTTIAUX, R. et GAGNON, P. (1959). Au sujet de la classification des Pseudomonas et des Achromobacter. Ann. Inst. Pasteur (Lille), 10, 121-134.
56. BUTTIAUX, R. et VANDEPITTE, J. (1960). Les Flavobacterium dans les méningites épidémiques des nouveau-nés. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 98, 398-404.
57. CABRERA, H.A. and DAVIS, G.H. (1961). Epidemic meningitis of the newborn caused by Flavobacteria. Amer. J. Dis. Child. 101, 289-295.
58. CASTELLANI, A. and CHALMERS, A.J. (1919). Manual of Tropical Medicine, 3rd ed, London : Baillière, Tindall and Cox.
59. CARLSON, D.J. (1963). Endocarditis caused by Herellea : Report of a case, with postmortem observations. Amer. J. Clin. Path. 40, 54-57.
60. CATALIOTTI, F. (1935). Ricerche sul B. pyocyaneum, G. Batt. Immunol. 15, 161-164.
61. CHESTER, F.D. (1901). A Manual of determinative Bacteriology New York : MacMillan ed.
62. CLOUGH, P.W. and CLOUGH, M.C. (1939). Practical Bacteriology, Hematology and Animal Parasitology. 9th ed, London : H.K. Lewis.
63. COHN, A., GRUNSTEIN, I., GOLBERG, R. and CRANE, J. (1949). So-called penicillin-resistant gonococcal infections, a clinical and laboratory study. Amer. J. Syph. Gonorr. Ven. Dis. 33, 86-90.

64. CONN, H.J. (1942). Validity of the genus Alcaligenes. J. Bact. 44, 353-360.
65. CONN, H.J., WOLFE, GLADYS, E. and FORD, MARK (1940). Taxonomic relationships of Alcaligenes spp. to certain soil saprophytes and plant parasites. J. Bact. 39, 207-226.
66. COURTIEU, A.L., CHASSIGNOL, S. et LONGERAY C. (1961). Caractères bactériologiques de 14 de Moraxella lwoffii et de M. glucidolytica (Acinetobacter). Ann. Inst. Pasteur (Paris) 100 (Suppl. No 6), 116-122.
67. COWAN, S.T. (1938). Unusual infections following cerebral operations. With a description of Diplococcus mocosus (von Lingelsheim). Lancet ii, 1052-1054.
68. COWAN, S.T. and STEEL, K.J. (1970). Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge : the University Press.
69. DALY, A.K., POSTIC, B. and KASS, E.H. (1962). Infections due to organisms of the genus Herellea B5W and B. anitratum. Arch. Intern. Med. 110, 580-591.
70. DARRELL, J.H. and WAHBA, A.H. (1964). Pyocine-typing of hospital strains of Pseudomonas pyocynea. J. clin. Path. 17, 236-242.
71. DAVIS, G.H.G. and PARK, R.W.A. (1962). A taxonomic Study of Certain Bacteria currently Classified as Vibrio Species. J. Gen. Microbiol. 27, 101-119.
72. DEBORD, G.G. (1939). Organisms invalidating the diagnosis of gonorrhea by the smear method. J. Bact. 38, 119-121.
73. DEBORD, G.G. (1942). Descriptions of Mimeae trib. nov. with three genera and three species and two new species of Neisseria from conjunctivitis and vaginitis. Iowa State Coll. J. Sci. 16, 471-480.
74. DEBORD, G.G. (1943). Species of the tribes Mimeae, Neisseriae and Streptococcaceae which confuse the diagnosis of gonorrhea by smears. J. Lab. Clin. Med. 28, 710-714.
75. DEBORD, G.G. (1948). Mima polymorpha in meningitis. J. Bact. 55, 764-765.
76. DE LEY, J. (1968). DNA base composition and taxonomy of some Acinetobacter strains. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 34, 109-114.
77. DE LEY, J., BAIN, N. and SHEWAN, J.M. (1967). Taxonomy of the Achromobacter and allied species. Nature (London) 214, 1037-1038.
78. DE LEY, J., KERSTERS, K., KHAN-MATSUBARA, J. and SHEWAN, J.M. (1970). Comparative D-gluconate metabolism and DNA base composition in Achromobacter and Alcaligenes, Antonie van LEEWENHOEK J. Bacteriol. Serol. 36, 193-207.
79. DE LEY, J. and RASSEL, A. (1965). DNA base composition, flagellation and taxonomy of the genus Rhizobium. J. Gen. Microbiol. 41, 85-91.
80. DEN DOOREN DE JONG, L.E. (1926). Bijdrage tot de Kennis van het mineralisatieproces. Rotterdam : Nijgh and van Ditmar.
81. DEPARIS, M., SARRASIN, A., NAJEAN, Y., CHABERT, ELVILAIN et MAGARD, H. (1956). Etat septicémique à Moraxella lwoffii. Presse Méd. 64, 751-752.
82. DOGGETT, R.G. (1969). Incidence of mucoid Pseudomonas aeruginosa from clinical sources. Appl. Microbiol. 18, 936-937.
83. DRESEL, E.G. und STICKL, O. (1928). Ueber reversible Mutationsformen der Typhusbazillen beim Menschen. Dtsch. med. Wschr. 54, 517-523.
84. DYE, D.W. (1959). The genus Xanthomonas. Comm. Phytopath. News 5, 1.
85. DYE, D.W. (1962). The inadequacy of the usual determinative tests for the identification of Xanthomonas spp. New Zealand J. Sci. 5, 393-416.

86. ELLER, Ch. (1969). Herrella (Acinetobacter) and Pseudomonas ovalis (Ps. putida) from Frozen Foods. App. Microbiol. 17, 26-30.
87. ELLIS, E.M. (1961). The recovery of Bacterium anitratum (B5W) from animals. Amer. J. Vet. Res. 22, 610-613.
88. ELSTON, H.R. and HOFFMANN, K.C. (1966). Identification and clinical significance of Achromobacter (Herellea) anitratus in urinary tract infections. Am. J. Med. Sci. 251, 75-80.
89. ENJALBERT, L. et BRISOU, J. (1960). Les achromobactérioses humaines. Path. Biol. 8, 1423-1430.
90. EWING, W.H. (1949). The relationship of Bacterium anitratum and members of the tribe Mimeae (DeBord). J. Bact. 57, 659-665.
91. EWING, W.H., DAVIS, B.R. and REAVES, R.W. (1957). Phenylalanine and malonate media and their use in enteric bacteriology. Publ. Hlth Lab. 15, 153-155.
92. EWING, W.H. and JOHNSON, J.G. (1960). The differentiation of Aeromonas and C27 cultures from Enterobacteriaceae. Intern. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 10, 223-230.
93. EYRE, J.W. (1899). A clinical and bacteriological study of diplobacillary conjunctivitis. J. Path. Bact. 6, 1-13.
94. FARKAS-HIMSLEY, H. (1967). Evaluation of Sellers medium in identification of some gram-negative bacteria. Appl. Microbiol. 15, 661-664.
95. FARMER, J.J. and HERMAN, L.G. (1969). Epidemiological fingerprinting of Pseudomonas aeruginosa by the production of and sensitivity to pyocin and bacteriophage. Appl. Microbiol. 18, 760-765.
96. FERGUSON, W.W. and ROBERTS, L.F. (1960). A bacteriological and serological study of organism B5W (Bacterium anitratum). J. Bact. 59, 171-183.
97. FLAMM, H. (1956). Moraxella saccharolytica (sp. n.) aus dem Liquor eines Kindes mit Meningitis. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 166, 498-502.
98. FLAMM, H. (1957). Eine weitere neue Species des Genus Moraxella: M. polymorpha sp.n. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 168, 261-265.
99. FLUGGE, C. (1886). Die Mikroorganismen erpzy F.C.H. ogel, 2ème ed, p. 692.
100. FOLEY, J.F., GRAVELLE, C.R., ENGLEHARD, W.E. and CHIN, T.D.Y. (1961). Achromobacter septicemia-fatalities in prematures. I. Clinical and epidemiological study. Amer. J. Dis. Child, 101, 279-288.
101. FRANK, L.H. and de MOSS, R.D. (1959). On the biosynthesis of pyocyanin. J. Bact. 77, 776-785.
102. FRED, H.L., ALLEN, T.D., HESSEL, H.L. and HOLTZMAN, C.F. (1958). Meningitis due to Mima polymorpha. Arch. intern. Med. 102, 204-206.
103. FREDERICQ, P., BETZ-BAREAU, M. et NICOLLE, P. (1956). Typage des souches d'Escherichia coli de gastro-entérite infantile par recherches de leurs propriétés colicinogènes. C. Soc. Biol. 150, 2039-2042.
104. FUJITA, H. (1957). Influence of antibiotics on the production of pyocyanin and fluorescin by P. aeruginosa and the occurrence of non-pyocyanin strains from clinical specimens. J. med. mic. 7, 169-175.
105. GABY, W.L. and FREE, E. (1958). Differential diagnosis of Pseudomonas like microorganisms in the clinical laboratory. J. Bact. 76, 442-444.
106. GABY, W.L. and FREE, E. (1953). Occurrence and identification of non-pigmented strains of P. aeruginosa in the clinical laboratory. J. Bact. 65, 746-748.

107. GABY, W.L. and HADLEY, C. (1957). Pratical laboratory test for the identification of Pseudomonas aeruginosa. J. Bact. 74, 356-358.
108. GALARNEAULT, T.P. et LEIFSON, E. (1964). Pseudomonas vesiculare (Busing et al.) comb. nov. Int. Bull. bact. Nomencl. Taxon. 14, 165-168.
109. GALARNEAULT, T.P. and LEIFSON, E. (1956). Taxonomy of Lophomonas n. gen. Can. J. Microbiol. 2, 102-110.
110. GARDNER, D.L., PINES, A. and STEWART, S.M. (1960). Fulminating and fatal pneumonia, and septicemia due to Achromobacter anitratus. Brit. Med. J. 1, 1108-1109.
111. GARRISON, R.G. (1963). The occurrence of Bacterium anitratum in secretions of pulmonary origin. Amer. J. Clin. Path. 40, 260-262.
112. GEORGE, R.M., COCHRAN, C.P. and WHEELER, W.E. (1961). Epidemic meningitis of the newborn caused by Flavobacteria. Amer. J. Dis. Child 101, 296-304.
113. GESSARD, M.C. (1882 a). Sur les colorations bleue et verte des linges à pansements. Acad. Sci. (Paris) 94, 536-538.
114. GESSARD, M.C. (1882 b). De la Pyocyanine et de son microbe. Thèse inaugurale de la Faculté de médecine de Paris, No 248.
115. GESSARD, M.C. (1890). Sur le microbe pyocyanique. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 4, 88-102.
116. GILARDI, G.L. (1968 a). Diagnostic criteria for differentiation of pseudomonads pathogenic for man. Appl. Microbiol. 16, 1497-1502.
117. GILARDI, G.L. (1967 a). Characteristics of Alcaligenes odorans var. viridans isolated from human sources. Canad. J. Microbiol. 13, 895-900.
118. GILARDI, G.L. (1967 b). Achromobacter and Moraxella (tribe Mimeae). A review and new studies. Am. J. Med. Technol. 33, 201-220.
119. GILARDI, G.L. (1968 b). Morphological and biochemical differentiation of Achromobacter and Moraxella (DeBord's Tribe Mimeae). Appl. Microbiol. 16, 33-38.
120. GILARDI, G.L. (1968 c). Differentiation of oxidative and non-glucolytic gram-negative bacteria. Amer. J. Med. Technol. 34, 334-345.
121. GILARDI, G.L. (1969 a). Characterization of the oxidase-negative, gram-negative coccobacilli (the Achromobacter-Acinetobacter group). Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 35, 421-429.
122. GILARDI, G.L. (1969 b). Evaluation of media for differentiating non-fermentating Gram-negative bacteria of medical significance. Appl. Microbiol. 18, 355-359.
123. GILARDI, G.L. (1971 a). Characterization of Pseudomonas species isolated from clinical specimens. Appl. Microbiol. 21, 414-419.
124. GILARDI, G.L. (1971 b). Antimicrobial susceptibility as a diagnostic aid in the identification of nonfermenting gram-negative bacteria. Appl. Microbiol. 22, 821-823.
125. GILARDI, G.L. (1972). Infrequently Pseudomonas species causing infection in humans. Ann. intern. Med. 77, 211-215.
126. GILARDI, G.L. (1973 a). Nonfermentative gram-negative bacteria encountered in clinical specimens. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 39, 229-242.
127. GILARDI, G.L. (1973 b). Non fermentative Gram-negative bacteria encountered in clinical specimens. Antonie v. Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 39, 229-242.
128. GILARDI, G.L. (1975). Identification of pigmented gram-negative bacilli. Health Lab. Sci. 12, 311-315.

129. GILLIES, R.R. and GOVAN, J.R.W. (1966). Typing of Pseudomonas pyocyanea by pyocine production. J. Path. Bact. 91, 339.
130. GLICK, L.M., MORAN, G.P., COLEMAN, J.M. and O'BRIEN, G.F. (1959). Lobar pneumonia with bacteremia caused by Bacterium anitratum. Amer. J. Med. 27, 183-186.
131. GORDON, J. and McLEOD, J.W. (1928). The practical application of the direct oxidase reaction in bacteriology. J. Path. Bact. 31, 185-188.
132. GRABER, C.D., RABIN, E.R., MASON, A.D., Jr and VOGEL, E.H., (1962). Jr Increasing incidence of nosocomial Herellea vaginicola infections in burned patients. Surg. Gynec. Obstet. 114, 109-112.
133. GRABER, C.D., HIGGINS, L.S. and DAVIS, J.S. (1965). Seldom-encountered agents of bacterial meningitis. J.A.M.A., 192, 956-960.
134. von GRAEVENITZ, A. (1965). Pseudomonas stutzeri isolated from clinical specimens. Am. J. Clin. Pathol. 43, 357-360.
135. von GRAEVENITZ, A. and REYDS, J.J. (1968). Disc. sensitivity as an aid in the identification of some Gram-negative nonfermentative rods. Hlth Lab. Sci. 5, 107-112.
136. von GRAEVENITZ, A. and SIMON G. (1970). Potentially pathogenic, non-fermentative, H₂S-producing gram-negative rod (lb). Appl. Microbiol. 19, 176.
137. von GRAEVENITZ, A. and WEINSTEIN, J. (1971). Pathogenic significance of Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas putida. Yale J. Biol. Med. 44, 265-272.
138. GRAY, Ph. H. (1928). The formation of indigotin from indole by soil bacteria. Proc. R. Soc. B. 102, 263.
139. GRAY, Ph.H. and THORNTON, H.G. (1928). Soil bacteria that decompose certain aromatic compounds. Zbl. II. Abt. Bakt.
140. GREEN, G.S., JOHNSON, R.H. and SHIVELY, J.A. (1965). Mimeae : Opportunistic pathogens. A review of infections in a cancer hospital. J.A.M.A., 194, 1065-1068.
141. GUNTHER, C. (1894). Ueber einen neuen, im Erdboden gefundenen Kommabacillus, Hygienische Rundschau 4, 721-724.
142. HAMON, Y. (1956). Contribution à l'étude des pyocines. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 91, 82-90.
143. HARDY, P.C., EDERER, G.M., MATSEN, J.M. (1970). Contamination of commercially packaged urinary catheter kits with the pseudomonad EO-1. New Engl. J. Med. 282, 33-35.
144. HAYNES, W.C. (1951). Pseudomonas aeruginosa, its characteristics and identification. J. Gen. Microbiol. 5, 939-950.
145. HAYNES, W.C. (1965). In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed. p. 100. Baltimore : Williams and Wilkins.
146. HAYNES, W.C. and RHODES, L.J. (1962). Comparative taxonomy of crystallogenic strains of Pseudomonas aeruginosa and Pseudomonas chlororaphis. J. Bact. 84, 1080-1084.
147. HAYWARD, A.C. and HODGKISS, W. (1961). Taxonomic relationships of Xanthomonas uredovorus. J. gen. Microbiol. 26, 133-139.
148. HENDERSON, A. (1965). The Moraxella lwoffii group of bacteria : a review. Antonie van Leeuwenhoek. J. Bacteriol. Serol. 31, 395-413.
149. HENDERSON, A. (1967 a). Urease activity of Acinetobacter lwoffii and A. anitratum. J. gen. Microbiol. 46, 399-406.
150. HENDERSON, A. (1967 b). The saccharolytic activity of Acinetobacter lwoffii and A. anitratum. J. Gen. Microbiol. 49, 487-489.

151. HENDRIE, M.S., HODGKISS, W. and SHEWAN, J.M. (1964). Considerations on organisms of the Achromobacter-Alcaligenes group. Ann. Inst. Pasteur (Lille) 15, 43-49.
152. HENRIKSEN, S.D. (1952). Moraxella : Classification and taxonomy. J. Gen. Microbiol. 6, 318-328.
153. HENRIKSEN, S.D. (1958). Moraxella duplex var. nonliquefaciens, habitat and antibiotic sensitivity. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 43, 157-161.
154. HENRIKSEN, S.D. (1960). Moraxella. Some problems of taxonomy and nomenclature. Intern. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 10, 23-28.
155. HENRIKSEN, S.D. (1963). Mimeae. The standing in nomenclature of the names of this tribus and of its genera and species. Intern. Bull. Bacteriol. Nomen. Taxon. 13, 51-57.
156. HENRIKSEN, S.D. and BOVRE, K. (1967). Taxonomy of Neisseria and Moraxella in the light of transformation results and DNA base composition. Spisy Pirodoved. Fak. Univ. J.E. Purkyne Brne Ser. K 40, (5), 183-185.
157. HENRIKSEN, S.D. and BOVRE, K. (1968 a). Moraxella kingii sp. nov., a haemolytic, saccharolytic species of the genus Moraxella. J. gen. Microbiol. 51, 377-385.
158. HENRIKSEN, S.D., and BOVRE, K. (1968 b). The taxonomy of the genera Moraxella and Neisseria. J. Gen. Microbiol. 51, 387-392.
159. HIRSCH, S.R. and KOCH, M.L. (1964). Herellea (Bacterium anitratum) endocarditis. J.A.M.A. 187, 148-150.
160. HOLDEN, M. (1935). Loefflerella : glanders and melioidosis. In Gay, F.P. et al. Agents of Disease and Host Resistance. Springfield, C.C. Thomas.
161. HOLLOWAY, B.W. (1960). Grouping Pseudomonas aeruginosa by lysogenicity and pyocinogenicity. J. Path. Bact. 80, 448-450.
162. HOLLOWAY, W.J. and SCOTT, E.G. (1960). Bacteremia due to gram-negative rods : review of 100 cases. Delaware Med. J. 32, 314-317.
163. HUGH, R. (1962). Comamonas terigena comb. nov. with proposal of a neotype and request for an opinion. Intern. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. 12, 33-35.
164. HUGH, R. (1970). Pseudomonas and Aeromonas, p. 175-190. In J.E. Blair, E.H. Lennette and J.P. Truant (ed) : Manual of clinical microbiology pp. 175-190, Bethesda Md : ASM.
165. HUGH, R. and GILARDI, G.L. (1974). Pseudomonas. In E.H. Lennett, E.H. Spaulding and J.P. Truant (ed) : Manual of clinical microbiology, 2nd ed. pp. 250-269. Washington, D.C. : ASM.
166. HUGH, R., IKARI, P. (1964). The proposed neotype strain of Pseudomonas alcaligenes Monias 1928. Intern. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. 14, 103-107.
167. HUGH, R. and LEIFSON, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. J. Bact. 66, 24-26.
168. HUGH, R. and LEIFSON, E. (1963). A description of the type strain of Pseudomonas maltophilia. Intern. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 13, 133-140.
169. HUGH, R. and RYSCHENKOW, E. (1960). An alcaligenes-like Pseudomonas species. Bact. Proc. p. 78.
170. HUGH, R. and RYSCHENKOW, E. (1961). Pseudomonas maltophilia, an Alcaligenes-like species. J. Gen. Microbiol. 26, 123-132.
171. HUGHES, D.E. and PUGH, G.W., Jr. (1970). Isolation and description of a Moraxella from horses with conjunctivitis. Amer. J. vet. Res. 31, 457-462.

172. IIZUKA, H. and KOMAGATA, K. (1962). "An attempt for the grouping of genus Pseudomonas". (Japanese) Jour. Agr. Chem. Soc. Japan, 36, 663-674.
173. IIZUKA, H. and KOMAGATA, K. (1963). Taxonomy of genus Pseudomonas with special reference to their modes of metabolism of carbon compounds. J. gen. appl. Microbiol. (Tokyo) 9, 83-95.
174. IKARI, P. and HUGH, R. (1963). Pseudomonas alcaligenes Monias (1928), a polar monotrichous dextrose non-oxidizer. Bact. Proc., Amer. Soc. Microbiol. Abstr. Ann. Meeting, Cleveland, Ohio, p. 41.
175. JACOB, F. (1954). Biosynthèse induite et mode d'action d'une pyocine, antibiotique de Pseudomonas pyocyanea. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 86, 149-160.
176. JEFFRIES, C.D., HOLTMANN, D.F. and GUSE, D.D. (1957). Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids. J. Bact., 73, 590-591.
177. JESSEN, O. (1965). Pseudomonas aeruginosa and other green fluorescent pseudomonads. A Taxonomic Study, Copenhagen : Munksgaard.
178. JONES, F.S. and LITTLE, R.B. (1923). An infectious ophthalmia of cattle. J. Exp. Med., 38, 139-148.
179. JONSSON, V. (1970). Proposal of a new species Pseudomonas kingii Int. J. Syst. Bact., 20, 255-257.
180. KAGEYAMA, M. (1969). Studies of a pyocine. I. Physical and chemical properties. J. Biochem., 55, 49-53.
181. KEKESSY, D.A., (1972). Caractérisation de Pseudomonas maltophilia. Path. Mic., 38, 17-18.
182. KEKESSY, D.A. and PIGUET, J.D. (1970). New method for detecting bacteriocin production. Appl. Microbiol., 20, 282-283.
183. KEILIN, D., and HARTREE, E.F. (1938). Cytochrome oxidase, Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B, 125, 171-186.
184. KELLY, M., and CLARKE, P.H. (1960). Amidase production by Pseudomonas aeruginosa. Biochem. J., 74, 21-25.
185. KENNER, B.A. and KABLER, P.W. (1956). Members of the tribe Mimeae isolated from river water. J. Bact., 72, 870-875.
186. KING, E.O. (1959). Studies on a group of previously unclassified bacteria associated with meningitis in infants. Amer. J. Clin. Pathol., 31, 241-247.
187. KING, E.O. (1964). The identification of unusual pathogenic gram-negative bacteria. Paper presented at the 64th meeting of the American Society for Microbiology, Washington, D.C.
188. KING, E.O., WARD, M.K. and RANEY, D.E. (1964). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein J. Lab. Clin. Med., 44, 301-307.
189. KING, O.H., Jr, COPELAND, G.D. and BERTON, W.M. (1963). Cardiovascular lesions of the Mimeae organisms. Amer. J. Med., 35, 241-250.
191. KOMAGATA, K. (1961). Differentiation of genus Pseudomonas and related aerobic bacteria. Jour. gen. Appl. Microbiol., 7, 282-299.
192. KOVACS, N. (1956). Identification of Pseudomonas pyocyanea by the oxidase reaction. Nature (London) 178, 703-705.
193. KRASSILNICOV, N.A. (1959). Diagnostik der Bakterien und Actinomyceten. Zend : Gustav Fischer.
194. LANGHOF, H. von und FRANKEN, E. (1964). Vulvovaginitis pseudogonorrhoeica durch penicillin-resistente Mimeae. Dtsch. Gesundh., 19, 574-575.

195. LAUTROP, H. (1961). Bacterium anitratum transferred to the genus Cytophaga. Intern. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 11, 107-108.
196. LAUTROP, H., BOVRE, K. and FREDERIKSEN, W. (1970). A Moraxella like micro-organism isolated from the genito-urinary tract of man. Acta Path. Microbiol. Scand. 78, 255-256.
197. LAVERGNE, E. de, LOCHARD, J., BURDIN, J.C. et SCHMITT, J. (1958). Infections pleurales à B5W (Bacterium anitratum). Presse Med. (Paris) 66, 177-179.
198. LECLERC, H.E. et BEERENS, H. (1962). Une technique simple de mise en évidence de l'oxydase chez les bactéries. Ann. Pasteur (Lille) 13, 187-179.
199. LEFEVRE, M. et SIROL, J. (1969). Moraxella, Acinetobacter et syndrome méningé. A propos de l'isolement à Fort-Lamy (Tchad) de 17 souches provenant de L.C.R. Presse méd. (Paris). 77, 1899-1902.
200. LEGROUX, R. et GENEVRAY, J. (1933). Etude comparative entre le bacille de Withmore et le bacille pyocyanique. Ann. inst. Pasteur, 51, 249-264.
201. LEHMANN, K.B. und NEUMANN, R. (1896). Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen Bakteriologischen Diagnostik. München : J.F. Lehmann.
202. LEHMANN, K.B. und NEUMANN, R. (1927). Atlas Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. München : p. 548-599. J.F. Lehmann.
203. LEIFSON, E. (1951). Staining, shape and arrangement of bacterial flagella. J. Bact. 62, 377-389.
204. LEIFSON, E. (1958). Identification of Pseudomonas, Alcaligenes and related bacteria. Zbl., 173, 487-488, 1958.
205. LEIFSON, E. (1960). Atlas of bacterial flagellation, p. 90 qq. New York and London : Academic Press.
206. LEIFSON, E. and HUGH, R. (1954 a). Alcaligenes denitrificans n. sp. J. Gen. Microbiol. 11, 512-513.
207. LEIFSON, E. and HUGH, R. (1954 b). A new type of polar monotrichous flagellation. J. gen. Microbiol. 10, 68-70.
208. LELLIOTT, R.A., BILLING, E. and HAYWARD, A.C. (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. appl. Bact. 29, 470-489.
209. LE MINOR, L. et PIECHAUD, M. (1963). Note technique. Une méthode rapide de recherche de la protéolyse de la gélatine. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 105, 792-794.
210. LEMOIGNE, M. GIRARD, H. et JACOBELLI, G. (1952). Bactérie du sol utilisant facilement le 2-3 butandiol. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 82, 389-394.
211. LESSEL, E.F. and LAUTROP, H. (1967). Report to the international Committee on Nomenclature of Bacteria by the Subcommittee on Moraxella and allied Bacteria. Int. J. Syst. Bact. 17, 89-91.
212. LINGELSHEIM von, W. (1906). Die bakteriologischen Arbeiten der Kgl. hygienischen Station zu Beuthen O. Schl. während der Genickstarrepidemie in Oberschleisien im Winter 1904-1905. Klin. Jahr. 15, 373-488.
214. LIU, P.V. (1960). Identification of pathogenic pseudomonads by extracellular antigens. J. Bact. 81, 28-31.
215. LIU, P.V., (1964). Pathogenicity of Pseudomonas fluorescens and related Pseudomonads to warm-blooded animals. Amer. J. Clin. Path. 41, 150-153.
216. LONG, H.F. and HAMMER, B.W. (1941). Distribution of Pseudomonas putrefaciens. J. Bact. 41, 100-105.

217. LOWBURY, E.J.L. and COLLINS, A.G. (1955). The use of a new cetrimide product in a selective medium for Pseudomonas pyocyanea. J. Clin. Path. 8, 47-48.
218. LUTIER, F., BRUNET, P., PIECHAUD, D., et STEFFEN, H. (1955). Méningites purulentes aiguës a Moraxella lwoffii. Presse Med. (Paris). 63, 860-861.
219. LUTZ, A., GROOTEN, O., VELU, H. et VELU, M. (1956). Rôle pathogène et fréquence des bactéries du type Bacterium anitratum. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 91, 413-417.
220. LUTZ, A., SCHAEFFER, A. et HOFFERER, M.J. (1958). Caractères biochimiques et sensibilité aux antibiotiques de bacilles du genre Pseudomonas. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 95, 49-60.
221. LWOFF, A. (1939). Révision et démembrement des Hemophilae : le genre Moraxella nov. gen. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 62, 168-176.
222. LWOFF, A. et AUDUREAU, A. (1941). La nutrition carbonée de Moraxella lwoffii. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 66, 417-424.
223. LYSENKO, O. (1961). Pseudomonas, an attempt at a general classification. J. Gen. Microbiol. 25, 379-408.
224. MAGROU, J. et PREVOT, A.R. (1948). Etude de systématique bactérienne. IX. Essai de classification des bactéries phytopathogènes et espèces voisines. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 75, 99-108.
225. MACCONKEY, A.T. (1908). Bile salt media and their advantages in some bacteriological examinations. J. Hyg. (Camb.) 8, 322-325.
226. MAIER, L., STILLE, W. und THOMALSKE, G. (1963). Mima polymorpha ein einem Hirnabscess bei einem Kriegsverletzten. Zschr. Hyg. Infektionskr. 149, 76-81.
227. MAIZTEGUI, J.I., BIEGELEISEN, J.Z. Jr, CHERRY, W.B. and KASS, E.H. (1965). Bacteremia due to gram-negative rods. A clinical, bacteriologic, serologic and immunofluorescent study. New Eng. J. Med. 272, 222-229.
228. MALEK, I., RADOCHOVA, M. and LYSENKO, O. (1963). Taxonomy of the species Pseudomonas odorans. J. gen. Microbiol. 33, 349.
229. MANDEL, M. (1966). Deoxyribonucleic acid base composition in the genus Pseudomonas. Microbiol. 43, 273-292.
230. MANDEL, A.D., WRIGHT, K. and MCKINNON, J.M. (1964). Selective medium for isolation of Mima and Herellea organisms. J. Bact. 88, 1524-1525.
231. MANN, S. (1970). 09.630. Zur Identifizierung und Redoxfunktion der Pigmente von Pseudomonas aureofaciens und P. iodina. Arch. Mikrobiol. 71, 304-318.
232. MARCUS, P.I. and TALALAY, P. (1956). Induction and purification of alpha and beta hydroxysteroid dehydrogenases. J. biol. Chem. 218, 661-667.
233. MARRARO, R.V. and RHEIMS, M.S. (1969). Identification of the Mima Herellea group of organisms and selected members of the genus Neisseria. Appl. Microbiol. 18, 575-578.
234. MIGULA, W. (1895). Schizomycetes (Bacteria, Bacterien). In A. Engler and K. Prantl : Die natürlichen Pflanzenfamilien. Teil. 1, Abt. 1a.
235. MIGULA, W. (1909). System der Bakterien, Tome 2 p. 717. Jena : Fischer.
236. MILLAN, J. LEFEVRE, M., PELOUX, Y., MENARD, M. et FAUCON, R. et coll. 03.561 (1969). La méningite cérébrospinale à Fès en 1966-1967. II, L'épidémie de Fès. Considérations bactériologiques. (c). Etude de 53 souches de Moraxella lwoffii et Moraxella glucidolytica isolées au cours de l'épidémie. Méd. trop. 29, 655-668.
237. MINZTER, A. (1956). Human infection caused by the Mimeae organisms report of a case of a presumably healed bacterial endocarditis due to Herellea vaginicola. Arch. Intern. Med. 98, 352-355.

238. MITCHELL, P.D. and BURRELL, R.G. (1964). Serology of the Mima-Herellea group and the genus Moraxella. J. Bact. 87, 900-909.
239. MITCHELL, R.G. and CLARKE, S.K.R. (1965). An Alcaligenes species with distinctive properties isolated from human sources. J. Gen. Microbiol. 40, 343-348.
240. MITCHELL, R.G. and HAYWARD, A. (1966). Postoperative urinary-tract infections caused by contaminated irrigated fluid. Lancet i, 793-799.
241. MOELLER, V. (1955). Simplified tests for some aminoacid-decarboxylases and for the arginine-dehydrogenase system. Acta Path. Microbiol. Scand. 36, 158-172.
242. MONIAS, B.L. (1928). Classification of Bacterium alcaligenes pyocyaneum and fluorescens. J. infect. Dis. 43, 330-334.
243. MONTEIL, H., HEINRICH, V. et RICHARD, C. (1976). Les bacilles à Gram négatif aérobies stricts. Rappel bactériologique et importance dans les hémocultures. Méd. et Mal. infect. 6, 180-184.
244. MOOR, W.A. (1949). The possible occurrence of Bacterium anitratum in several cases of conjunctivitis. Amer. J. Ophthal. 32, 1593-1594.
245. MOORE, H.B. and PICKETT, M.J. (1960 a). The Pseudomonas-Achromobacter group. Canad. J. Microbiol. 6, 35-42.
246. MOORE, H.B. and PICKETT, M.J. (1960 b). Organisms resembling Alcaligenes faecalis. Canad. J. Microbiol. 6, 43-52.
247. MORAX, V. (1896). Note sur un diplobacille pathogène pour la conjonctivite humaine. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 10, 337-345.
248. MUDD, S. and WARREN, S. (1923). A readily cultivable vibrio, filterable through Berkfeld "V" candles, Vibrio percolans (new species). J. Bact. 8, 447-458.
249. MURPHY, G.P. and McDONALD, D.F. (1961). Proteus, Pseudomonas and Achromobacter septicemias as complications of chronic infection in anatomically predisposed urinary tracts. J. Urol. 85, 672-675.
250. MURRAY, R.G.E. and TRUANT, J.P. (1954). The morphology, cell. structure, and taxonomic affinities of the Moraxella. J. Bact. 67, 13-22.
251. VAN NELL, C.B. and ALLEN, M.B. (1952). A note on Pseudomonas stutzeri. J. Bact. 64,
252. NELSON, J.D. and SHELTON, S. (1965). Cultural, biochemical, and immunological properties of Mima, Herellea, and Flavobacterium species. Appl. Microbiol. 13, 801-807.
253. NIVEN, C.F. Jr. SMILEY, K.L. and SHERMAN, J.M. (1942). The hydrolysis of arginine by streptococci. J. Bact. 42, 651.
254. OBERHOFER, T.R. and ROWEN, J.W. (1974). Acetamide agar for differentiation of nonfermentative bacteria. Appl. Microbiol. 28, 720-721.
255. OBERHOFER, T.R., ROWEN, J.W., HIGBEE, J.W. and JOHNS, R.W. (1976). Evaluation of the rapid decarboxylase and dihydrogenase tests for the differentiation of nonfermentative bacteria. J. Clin. Microbiol. 3, 137-142.
256. OGINSKY, E.L. (1955). Mechanism, of arginine and citrulline breakdown in micro-organisms. In Amino Acid Metabolism, ed : W.D. Mc Elroy and H.B. GLASS. Baltimore : Johns Hopkins Press.
257. OLSEN, A. (1967). A clinical analysis of 10 cases of post-operative infection with Flavobacterium meningosepticum. Dan. Med. Bull. 14, 1-5.
258. OLSEN, H., FREDRIKSEN, W.C. and SIBONI, K.E. (1965). Flavobacterium meningosepticum in 8 non-fatal cases of post-operative bacteraemia. Lancet i, 1294-1296.

259. OPSAHL, R. (1961). Bacterium anitratum (Acinetobacter anitratum) isolated from a case with cerebral abscess and purulent meningitis. Acta Path. Microbiol. Scand. 51, 72-74.
260. OSMANN, M.A.M. (1965). Pyocine typing of Pseudomonas aeruginosa. J. Clin. Path. 18, 200-202.
261. OTTO, L.A. and PICKETT, M.J. (1976). Rapid method for identification of gram-negative, nonfermentative bacilli. J. Clin. Microbiol. 3, 566-575.
262. PALLERONI, N.J. and DOUDOROFF, M. (1972). Some Properties and taxonomic subdivisions of the genus Pseudomonas Ann. Rev. Phytopath. 10, 73-100.
263. PALLERONI, N.J., DOUDOROFF, M., STANIER, R.Y., SOLANES, R.E. and M. MANDEL (1970). Taxonomy of the aerobic pseudomonads: the properties of the Pseudomonas stutzeri group. J. Gen. Microbiol. 60, 215-231.
264. PAPA VASSILIOU, J. (1961). Actions antibiotiques réciproques chez Pseudomonas aeruginosa. Arch. Inst. Pasteur (Tunis) 38, 57-63.
265. PEASE, M., CHERNAIK, J.R. and DULOP, S. (1968). An approach to the problem of differentiating pseudomonads in the clinical laboratory. Am. J. Med. Technol. 34, 35-40.
266. PEDERSEN, M.M., MARSO, E. and PICKETT, M.J. (1970). Nonfermentative bacilli associated with man. III. Pathogenicity and antibiotic susceptibility. Amer. J. Clin. Path. 54, 178-192.
267. PELL, J.A. (1966). Moraxella duplex var. nonliquefaciens in sputum. J. Med. Lab. Technol. 23, 101-102.
268. PETIT, P. (1900). Recherches cliniques et bactériologiques sur les infections aiguës de la cornée. Thèse Fac. Med. Paris.
270. PETRUSCHKY, J. (1896). Bacillus faecalis alcaligenes (n.sp.) Zbl. Bakt. I. orig. 19, 187-192.
271. PHILLIPS, I., EYKYN, S., CURTIS, M.A. and SNELL, J.J.S. (1971). Pseudomonas cepacia (multivorans) septicemia in an intensive-care unit. Lancet i, 375-377.
272. PICKETT, M.J. and MANCLARK, C.R. (1965). Tribe Mimeae. An illegitimate epithet. Amer. J. Clin. Path. 43, 161-165.
273. PICKETT, M.J. and PEDERSEN, M.M. (1968). Screening procedure for partial identification of nonfermentative bacilli associated with man. Appl. Microbiol. 16, 1631-1632.
274. PICKETT, M.J. and PEDERSEN, M.M. (1970). Characterization of saccharolytic nonfermentative bacteria associated with man. Can. J. Microbiol. 16, 351-362.
275. PICKETT, M.J. and PEDERSEN, M.M. (1970). Salient features of nonfermentative rods. Can. J. Microbiol. 16, 401-409.
276. PIECHAUD, D., PIECHAUD, M. and SECOND, L. (1951). Etude de 26 souches de Moraxella lwoffii. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 80, 97-99.
277. PIECHAUD, D., PIECHAUD, M. et SECOND, L. (1956). Variétés protéolytiques de Moraxella lwoffii et de Moraxella glucidolytica (Bact. anitratum). Ann. Inst. Pasteur (Paris) 90, 517-522.
278. PIGUET, J.D. et KEKESSY, D.A. (1972). Répartition de l'activité de phages de Pseudomonas aeruginosa sur les souches de différentes origines. Progr. Immunobiol. Standard 5, 406-409.
279. PIKE, R.M., SCHULZE, M.L. and Mc CULLOUGH, M. (1951). Isolation of Mima polymorpha from a patient with subacute bacterial endocarditis. Amer. J. Clin. Path. 21, 1094-1096.
280. PINTER, M. and BENDE, J. (1968). Biochemical similarity of Acinetobacter lwoffii and Acinetobacter anitratus. Pathol. Microbiol. 31, 41-50.

281. PINTER, M. and IVANYI, J. (1965). Septicemia due to Flavobacterium and Mima polymorpha. Brit. Med. J. 1, 1555-1564.
282. PONGIGLIONE, R. e JANNUZZI, C. (1969). Endocardite letale da Achromobacter in bambino affetto da stenosi valvolare aortica congenita. Minerva Pediat., 16, 25-34.
283. PREVOT, A.R. (1961). Traité de systématique bactérienne. Paris : Dunod.
284. PRIBRAM, E. (1933). Klassifikation der Schizomyceten. Leipzig und Wien : F. Deuticke.
285. REDEFERN, M.S., PALLERONI, N.J. and STANIER, P.Y. (1966). A comparative study of Pseudomonas pseudomallei and Bacillus mallei. J. Gen. Microbiol. 43, 293-313.
286. REYNOLDS, R.C. and CLUFF, L.E. (1963). Infection of man with Mimeae. Ann. Intern. Med. 58, 759-767.
287. RHODES, M.E. (1965). Flagellation as a criterion for the classification of bacteria. Bact. Reviews 29, 442-446.
288. RICHARD, C. (1969). La réaction de Voeges-Proskauer (VP) et les espèces pigmentées et non-pigmentées du genre Pseudomonas. Ann. Biol. Clin. 27, 703-706.
289. ROGERS, K.B. (1960). Pseudomonas infections in a children's hospital. J. Appl. Bact. 23, 533-537.
290. ROBINSON, R.C., GARRISON, R.G. and BROWN, R.W. (1964). Evaluation of the clinical significance of the genus Herellea. Ann. Intern. Med. 60, 19-27.
291. ROSENFELD, J. and APPEL, G. (1963). The use of neopeptone glycerol agar for the identification of P. aeruginosa. Am. J. med. Techn. 29, 189-193.
292. ROSENTHAL, S.L. (1974). A simplified method for single carbon source tests with Pseudomonas species. J. appl. Bact. 37, 437-441.
293. ROY, T.E., CRAIG, G. and SILVERTHORNE, N. (1951). Severe infections due to organism B5W (Bacterium anitratum). Canad. J. Public Health 42, 71-72.
294. RUSCH, B.F. Jr. and RAVITCH, M.M. (1960). Septic thrombophlebitis due to a species of Achromobacter in a four-year-old boy. J.A.M.A. 173, 253-254.
295. SARKAR, J.K., CHOUDHURY, B. and TRIBEDI, B.P. (1959). Alcaligenes faecalis-its systematic study. Indian J. Med. Res. 47, 1-12.
296. SCARLETT, M. (1916 a). Infections cornéennes à diplobacilles. Note sur deux diplobacilles non encore décrits (Bacillus duplex non liquefaciens et Bacillus duplex josefi). Ann. Oculist. 153, 100-111.
297. SCARLETT, M. (1916 b). Différentiation des variétés de diplobacilles par les réactions humérales. Ann. Oculist. 153, 485-490.
298. SCHAUB, J.G. and HAUBER, F.D. (1948). A biochemical and serological study of a group of identical unidentifiable gram-negative bacilli from human sources. J. Bact. 56, 379-385.
299. SCHNEIERSON, S.S., AMSTERDAM, D. and PERLMAN, E. (1960). Inhibition of P. aeruginosa pigment formation by chloramphenicol and erythromycin. Antibiotics Chemother 10, 30-36.
300. SCHROETER, J. (1872). Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente. In: F. COHN, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1. Band, 109-126.
301. SCOTT, E.G. and MAHOMEY, B.A. (1953). The occurrence of members of the tribe Mimeae in human infections. Delaware Med. J. 25, 22-24.
302. SEELIGER, H. (1953). Zur Systematik des Bacterium anitratum (Schaub und Hauber). Zbl. Bakt. I. orig. 159, 173-176.

303. SELENKA, F. (1958). Ueber die Abgrenzung von P. aeruginosa gegen P. fluorescens und P. putida auf TTC Nährböden. Arch. Hyg. 142, 569-574.
304. SELIGMANN, E. and WASSERMANN, M. (1947). Induced resistance to streptomycin. J. Immunol. 57, 351-357.
305. SELLERS, W. (1964). Medium for differentiating the gram-negative, nonfermenting bacilli of medical interest. J. Bact. 87, 46-48.
306. SHAW, C. and CLARKE, P.H. (1955). Biochemical classification, classification of Proteus and Providencia cultures, J. gen- Microbiol. 13, 155-161.
307. SHERRIS, J.C., SHOESMITH, J.G., PARKER, M.T. and BRECKSON, D. (1959). Tests for the rapid breakdown of arginine by bacteria. Their use in the identification of pseudomonads. J. Gen. Microbiol. 21, 389-396.
308. SHEWAN, J.M., HOBBS, G. and HODGKISS, W. (1960). A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram-negative bacteria, with special reference to the Pseudomonadaceae. J. appl. Bact. 23, 379-390.
309. SHIMWELL, J.L., CARR, J.G. and RHODES, M.E. (1960). Differentiation of Acetomonas and Pseudomonas. J. gen. Microbiol. 23, 283.
310. SHULMAN, B.H. and JOHNSON, M.S. (1944). A case of meningitis in a premature infant due to a proteolytic Gram-negative bacillus. J. Lab. Clin. Med. 29, 500-507.
311. SIERRA, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of contact between cells and fatty substrates. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 23, 15-22.
312. SINGER, J. and VOLCANI, B.E. (1955). An improved ferric chloride test for differentiating Proteus-Providencia group from other Enterobacteriaceae. J. Bact. 16, 303-306.
313. SJOBERG, L. and LINDBERG, A.A. (1967). Phage and pyocine typing of Pseudomonas aeruginosa. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 70, 639-640.
314. SNEATH, P.H.A. (1956). Cultural and biochemical characteristics of the genus Chromobacterium. J. gen. Microbiol. 15, 70-98.
315. SNEATH, P.H.A. (1960). A study of the bacterial genus Chromobacterium. Iowa State J. Sci. 34, 243-256.
316. SNEATH, P.H.A. (1966). Identification Methods applied Chromobacterium, In : identification Methods for Microbiologicals. Ed. Gibbs et Skinner. London and New York : Academie press.
317. SORRELL, W.B. and WHITE, L.V. (1953). Acute bacterial endocarditis caused by a variant of the genus Herellea. Amer. J. Clin. Path. 23, 134-138.
318. SPENCER, S. (1962). Infection caused by Herellea vaginicola Conn. Med. 26, 583-584.
319. SPRECACE, G.A. and DUNKELBERG, W.E. Jr (1961). Mima polymorpha causative agent in acute and chronic meningitis. J.A.M.A., 177, 706-708.
320. STANIER, R.Y., PALLERONI, N.J. and DOUDOROFF, M. (1966). The aerobic pseudomonads : a taxonomic study. J. Gen. Microbiol. 43, 159-271.
321. STARR, M.P. and STEPHENS, W.L. (1964). Pigmentation and taxonomy of the genus Xanthomonas. J. Bact. 87, 293-
322. STEEL, K.J. et COWAN, S.T. (1964). Le rattachement de Bacterium anitratum, Moraxella lwoffii, Bacillus mallei et Haemophilus paraptusis au genre Acinetobacter Brisou et Prévot. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 106, 479-481.

323. STENZEL, W. and MANNHEIM, W. (1963). On the classification and nomenclature of some nonmotile and coccoid diplobacteria, exhibiting the properties of Achromobacteriaceae. Intern. Bull. Bacteriol. Nom. and Taxon. 13, 195-200.
324. STOCKWELL, B.A., WHITAKER, A.N. and CHEONG, M. (1964). Fatal Achromobacter anitratus pneumonia with bacteremia and neutropenia. Med. J. Aust. 2, 370-373.
325. STUART, C.A., FORMAL, S. and McGANN, V. (1949). Further studies of B5W, an anaerogenic group in the Enterobacteriaceae. J. Infect. Dis. 84, 235-239.
326. SUGATADASA, A.A. and ARSESULERATNE, S.N. (1963). Neonatal meningitis caused by new serotype of Flavobacterium meningosepticum. Brit. Med. 1, 37-38.
327. SUTTER, V.L. (1968). Identification of Pseudomonas species isolated from hospital environment and human sources. J. appl. Microbiol. 16, 1532-1538.
328. SVIHUS, R.H., LUCERO, E.M., MIKOLAJCZYK, R.T. and CARTER, E.E. (1961). Gonorrhea-like syndrome caused by penicillin-resistant Mimeae. J.A.M.A. 177, 121-124.
329. TAPLIN D., BASSETT, D.C.J. and MERTZ, P.M. (1971). Foot Lesions Associated with Pseudomonas capacia. Lancet 11, 568-571.
330. TATUM, H.W., EWING, W.H. and WEAVER, R.E. (1974). Miscellaneous gram-negative bacteria, p. 270-294. In E.H. Lennett, E.H. Spaulding and J.P. Truant (ed), Manual of Clinical Microbiology, 2nd ed. Washington, D.C. : American Society for Microbiology.
331. TAYLOR, J.J. and WHITBY, (1964). Pseudomonas pyocyanea and the arginine dihydrolase system. J. clin. Path. 17, 122-125.
332. THIBAUT, P. (1961). A propos d'Alcaligenes faecalis. Ann. Inst. Pasteur (Paris), 100 Suppl. No, 6 : 59-73.
333. THORNLEY, M.J. (1967). A taxonomic study of Acinetobacter and related genera. J. gen. Microbiol. 49, 211-216.
334. TORREGROSA, M. de, and ORTIZ, A. (1961). Severe infections in children due to rare gram-negative bacilli Mima polymorpha and Bacillus anitratum. J. Pediat. 59, 35-41.
335. ULRICH, J.A. and NEEDHAM, G.M. (1953). Differentiation of Alcaligenes faecalis from Brucella bronchiseptica by biochemical and nutritional methods. J. Bact. 65, 210-215.
336. VANDEPITTE, J., BEECKMANN, Ch. et BUTTIAUX, R. (1958). Quatre cas de méningite à Flavobacterium chez des nouveau-nés. Ann. Soc. Belge Med. Trop. 38, 563-570.
337. VERON, M., (1961). Pseudomonas pigmentés. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 100, 16-42.
338. VERON, M., THIBAUT, P. et SECOND, L. (1959). Neisseria mucosa (Diplococcus mucosus Lingelheim). Ann. Inst. Pasteur (Paris) 97, 497-510.
339. VILLECOURT, P. et JACOBELLI, G. (1954). Bactéries pathogènes ou saprophytes transformant le glucose en acide gluconique : Bacterium anitratum, B5W, Moraxella lwoffii var. glucidolytica, Neisseria winogradskyi. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 86, 493-502.
340. WAAGE, R. (1953). Bacterium anitratum (B5W) isolated from cerebral abscesses. Acta Path. Microbiol. Scand. 33, 268-270.
341. WAHBA, A.H. (1963). The production and inactivation of pyocines. J. Hyg. (Camb.) 61, 431-441.
342. WAHBA, A.H. and DARRELL, J.H. (1965). The identification of atypical strains of Pseudomonas aeruginosa. J. Gen. Microbiol. 38, 329-342.
343. WATSON, D.G. (1957). Purulent neonatal meningitis : A study of forty-five cases. J. Pediat. 50, 352-360.

- 344. WETMORE, P.W. and GOCHENOUR, W.S. Jr (1956). Comparative studies of the genus *Malleomyces* and *Pseudomonas* species. I. Morphological and cultural characteristics. *J. Bact.* 72, 79-89.
- 345. WHITMORE, A. (1913). An account of a glanders-like disease occurring in Rangoon. *J. Hyg. (Camb.)* 13, 1-15.
- 346. WILSON, G.S. and MILES, A.A. (1964). Topley and WILSON's principles of bacteriology and immunity. 5th ed. Baltimore, Md. Williams and Wilkins Compagny.
- 347. YABUUCHI, E. and OHYAMA, A. (1970). Flavobacterium meningosepticum from neonatal meningitis. *Jap. J. Microbiol.* 14, 241-242.

